

Venöse Revaskularisation bei Vorliegen einer Mikro- und Makroangiopathie

Dissertation
zur Erlangung des akademischen Grades
Dr. med.

an der Medizinischen Fakultät
der Universität Leipzig

eingereicht von
Julia Virginie Schiller
geboren am 17.10.1984 in Magdeburg

angefertigt an
der Universität Leipzig
Klinik für Herzchirurgie

Betreuer: Prof. Dr. med. S. Dhein

Redaktionsschluss: 11.01.2010

Beschluss über die Verleihung des Doktorgrades vom: 21.06.2011

Bibliographische Beschreibung

Schiller, Julia Virginie

Venöse Revaskularisation bei Vorliegen einer Mikro- und Makroangiopathie

Universität Leipzig, Dissertation

93 S., 109 Lit., 31 Abb., 17 Tab.

Referat:

In der vorliegenden Arbeit wurde die venöse Revaskularisation bei Vorliegen einer Mikro- und Makroangiopathie untersucht. Die Zielgruppe dieser Methodik sind Patienten, die aus kardiologischer und herzchirurgischer Sicht austherapiert sind, für die weder ein Stent noch eine konventionelle Bypassoperation in Frage kommt. Das betrifft Patienten mit dissezierten Gefäßen, mit schwerer diffuser koronarer Herzerkrankung oder small vessel disease. Für diese Patienten ist derzeit keine optimale Therapie vorhanden. Es handelt sich somit um eine ultima ratio-Therapie. Zur Prüfung der Effektivität der Methode bei beschriebenem Krankheitsbild wurde in Minipigs eine Mikroangiopathie durch Injektion von Mikrosphären (Durchmesser 100µm) in den linken Hauptstamm erzeugt. Nach 7 Wochen Krankheitsentwicklung der Mikroangiopathie wurde eine hochgradige Stenose des Ramus interventricularis anterior (RIVA) hervorgerufen, welches die Makroangiopathie simulieren sollte. Anschließend wurden die Tiere der Therapiegruppe mit einem Bypass von der Arteria mammaria auf die Begleitvene des RIVA versorgt. Dabei wurde die Begleitvene proximal der Anastomose ligiert. Die Kontrollgruppe blieb ohne Therapie. Die Stenose und der Bypass wurden angiographisch dargestellt. Nach 17 Wochen wurde bei allen Tieren eine Herzkatheteruntersuchung durchgeführt, um die Stenose und den Bypass zu beurteilen. Als Maß für die Herzleistung wurde zu allen 3 Versuchsteilen die Ejektionsfraktion bestimmt. Anhand der Ejektionsfraktion konnte die Überlegenheit der venösen Revaskularisation als Therapie gezeigt werden. 7 Wochen nach Injektion der Mikrosphären fielen die Werte der Ejektionsfraktion beider Gruppen ab. Nach 17 Wochen nahm die Ejektionsfraktion der Therapiegruppe, die in der Zwischenzeit mit einem Bypass versorgt wurden, wieder deutlich zu und die der Kontrollgruppe sank weiter ab. Zusätzlich wurden die entnommenen Herzen histologisch untersucht. Dabei zeigte sich ein Umbau des Gefäßsystems im Bereich der angeschlossenen Vene.

Inhaltsverzeichnis

Bibliographische Beschreibung	2
Inhaltsverzeichnis	3
Abkürzungsverzeichnis	5
1. Einleitung.....	6
1.1. Patienten ohne therapeutische Option	6
1.2. Das therapeutische Dilemma bei gleichzeitigem Vorliegen einer Mikro- und Makroangiopathie	7
1.3. Therapieoption - venöse Revaskularisation	9
1.4. Vorversuch	11
1.5. Fragestellung.....	13
2. Methodik.....	14
2.1. Versuchskonzept.....	14
2.2. Versuchsbeschreibung	15
2.2.1. Vorgehensweise vor der Operation	15
2.2.1.1. Vorbereitung	15
2.2.1.2. Narkose	16
2.2.2. Medikation	16
2.2.3. Versuchsprotokoll	18
2.2.3.1. Versuchsteil 1: Induktion der Mikroangiopathie durch Mikropsphären.....	18
2.2.3.2. Versuchsteil 2: Herzinfarkt, venöse Revaskularisation (Therapiegruppe)	19
2.2.3.3. Versuchsteil 3: Herzkatheteruntersuchung, Herzexplantation	23
2.3. Erhobene Parameter und Untersuchungen	25
2.3.1. Echokardiographie	25
2.3.2. Herzkatheteruntersuchung	26
2.3.3. Ultraschallflussmessung.....	28
2.3.4. Bestimmung der Enzyme	28
2.3.5. Elektrokardiographie.....	28
2.3.6. Messung des mittleren arteriellen Blutdrucks.....	29
2.3.7. Blutgasanalyse	29
2.3.8. Entnahme Herz.....	29
2.4. Histologische Methodik und Auswertung.....	30
2.4.1. Herstellung der histologischen Schnitte.....	30
2.4.2. Protokoll der Hämatotoxilin Eosin- Färbung für Paraffinschnitte.....	30
2.4.3. Auswertung Histologie	31
2.5. Lyse.....	32
2.6. Statistik.....	32
3. Materialien	33
3.1. Versuche	33
3.1.1. Minipigs	33
3.1.2. Medikamente.....	33
3.1.3. Materialien	34
3.1.4. Geräte	34
3.2. Histologische Aufarbeitung	35
3.2.1. Materialien	35

3.2.2.	Geräte	35
3.3.	Lyse	36
3.3.1.	Materialien	36
3.3.2.	Geräte	36
3.4.	Statistische Datenanalyse.....	36
4.	Ergebnisse.....	37
4.1.	Allgemeine Charakteristika der Versuchstiere	37
4.1.1.	Vergleich Therapiegruppe und Kontrollgruppe	37
4.1.2.	Komplikationen/Ausfälle	38
4.2.	Funktionelle Ergebnisse.....	39
4.2.1.	Auswertung Mikroangiopathie	39
4.2.1.1.	Herzkatheteruntersuchung	39
4.2.1.2.	Funktionelle Befunde	42
4.2.1.3.	Ergebnisse Lyse	42
4.2.2.	Echokardiographie - Ejektionsfraktion	43
4.2.3.	Herzkatheteruntersuchung - Auswertung Makroangiopathie	44
4.2.4.	Ultraschallflussmessung.....	44
4.2.5.	Enzymbestimmung.....	44
4.2.6.	Elektrokardiographie und hämodynamische Parameter	46
4.2.6.1.	Elektrokardiographie – ST-Veränderungen	46
4.2.6.2.	Herzfrequenz	47
4.2.6.3.	Mittlerer arterieller Blutdruck	48
4.2.6.4.	Systolischer und diastolischer Blutdruck	48
4.3.	Histologische Ergebnisse.....	50
4.3.1.	Vergleich Gefäße in verschiedenen Bereichen des Herzens.....	50
4.3.2.	Nicht klassifizierter Gefäßtyp	52
5.	Diskussion	57
5.1.	Versuchsmodell.....	57
5.1.1.	Auswahl der Versuchstiere	57
5.1.2.	Mikroangipathie	57
5.1.3.	Makroangiopathie	58
5.1.4.	Operationskonzept	59
5.1.4.1.	Auswahl des Bypassgrafts	59
5.1.4.2.	Beating heart Chirurgie	60
5.1.5.	Auswertung der Ergebnisse	61
5.2.	Umbau des Gefäßsystems	66
5.3.	Limitationen des Modells.....	70
5.3.1.	Anzahl Versuchstiere	70
5.3.2.	Methodik und funktionelle Parameter.....	71
5.4.	Mögliche klinische Anwendungen der Operationstechnik.....	73
6.	Zusammenfassung der Arbeit	76
7.	Literaturverzeichnis	78
8.	Anhang.....	86
9.	Danksagung	91

Abkürzungsverzeichnis

ACB	arteri coronarer Bypass
CABG	coronar-arterieller Bypassgraft
CK	Creatinkinase
CKMB	Creatinkinase vom Myokardtyp
EDRF	endothelium derived relaxing factor (aus dem Endothel stammender Erschlaffungs faktor)
EKG	Elektrokardiographie
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay (enzymgebundener Immunosorbenttest)
F	fraction
H.E.	Hämatotoxin Eosin
IE	internationale Einheit
i.m.	intramuskulär
i.v.	intravenös
MAP	mean arterial pressure (mittlerer arterieller Blutdruck)
MW	Mittelwert
n.s.	nicht signifikant
PCI	percutaneous coronary intervention (perkutane Koronarintervention)
PTCA	percutaneous transluminal coronary angioplasty (perkutane transluminale Koronar-Angioplastie)
RIVA	Ramus interventricularis anterior
S.E.M.	standard error of means

1. Einleitung

1.1. Patienten ohne therapeutische Option

Bezüglich der Einstufung des Diabetes hat ein Paradigmenwechsel stattgefunden: vom Diabetes als Stoffwechselerkrankung zur kardiovaskulären Erkrankung (Grundy et al., 1999).

Der Zusammenhang zwischen Diabetes und koronarer Herzerkrankung ist offensichtlich. So liegt die Prävalenz der koronaren Herzkrankheit beim erwachsenen Diabetiker bei 55%, während in der Allgemeinbevölkerung eine Prävalenz von 2-4 % angenommen wird (Fein, Scheuer, 1990). Koronare Herzerkrankung ist die Todesursache von ca. 65% der Diabetiker in den USA (Panzram, 1987) und von 66% in Europa (Geiss et al., 1995).

Diabetes mellitus stellt einen unabhängigen Risikofaktor zur Entwicklung von koronarer Herzkrankheit dar (Fein, Scheuer, 1990). Dies liegt mitunter an der Konstellation von Risikofaktoren bei Diabetespatienten. Sie weisen häufig Adipositas, einen erhöhten Blutdruck und erhöhte LDL-Cholesterinwerte auf (The Diabetes Control and Complications Trial Research Group, 1993). Dabei spielt für den Diabetiker sowohl die Makroangiopathie als auch die Mikroangiopathie eine entscheidende Rolle. Die Makroangiopathie bezeichnet die Stenosierung der großen Koronararterien und die Mikroangiopathie stellt die Verengung der kleineren Koronargefäße ($\leq 100 \mu\text{m}$) dar.

In einer Arbeit von Factor et al. (1980) war bei 72% normotensiven Diabetikern eine Mikroangiopathie vorhanden, wobei davon die Hälfte der Diabetiker zusätzlich von einer Makroangiopathie in den Koronarien betroffen war. Im Vergleich dazu konnten solche Veränderungen bei nur 28% der Nicht-Diabetiker verzeichnet werden. Für diese häufig auftretende Kombination von Mikro- und Makroangiopathie gibt es nach wie vor wenige Behandlungsmöglichkeiten. Daher ist es wenig überraschend, dass ein sehr großer Teil der koronarkranken Patienten ohne effektive Therapie, Diabetiker sind.

Durch den wissenschaftlichen Fortschritt in der Therapie von koronarer Herzkrankheit konnte zwischen 1980 und 2000 ein deutlicher Rückgang in der Sterberate, verursacht durch koronarer Herzkrankheit, verzeichnet werden (Ford et al., 2007). Im Gegensatz dazu hat die alterskorrigierte Todesrate aufgrund von Diabetes um 30% zugenommen (in den USA) (National Center for Health Statistics USA, 1998). Dabei wird deutlich, dass neue Therapieverfahren entwickelt werden müssen, von denen der Diabetiker profitiert.

Eine weitere große Gruppe von Patienten, die auf alternative Therapien angewiesen ist, sind die Patienten mit vorausgegangenen multiplen Stentimplantationen. Trotz der weiten Verbreitung und Entwicklung der PTCA, weisen Stents weiterhin eine hohe Restenoserate auf. Als

Ursache dafür gilt die Endothelverletzung durch den Stent, welche zu einer Art beschleunigten Arteriosklerose-Antwort führt (Roskamm et al., 2004). Heutzutage liegt die angiographische Restenoserate 6 Monate nach percutaner Koronarintervention bei ca. 30% (Reifart et al., 1998). Bei 20% davon ist eine erneute Intervention notwendig in Form weiterer Stents oder Revaskularisation. Mehrfach-Stent-Implantationen zeigen eine vierfach höhere Restenosierungsrate (Antoniucci et al., 1998). Dadurch wird die Revaskularisation zur letzten Therapieoption. Jedoch kann selbst die Revaskularisation zum Problem werden, wenn das Gefäßlumen distal der Stents bereits zu klein ist für eine Anastomose eines Bypasses.

Zugespitzt wird das Problem zusätzlich dadurch, dass bei der Stent-Implantation zunehmend die distalen Segmente der Koronararterien mit Stents versorgt werden. Dabei werden Gefäße mit einem Durchmesser von $\leq 2,5\text{mm}$ gestentet (Kaluski et al., 2009, Togni et al., 2007), welche eine höhere Restenoserate aufweisen als größere Gefäße (Serruys et al., 1994). Bei Restenosen dieser kleinen Gefäße ist zumeist aufgrund des geringen Gefäßdurchmessers distal keine Anlage eines Bypasses mehr durchführbar. Auch in diesem Fall sind häufig Diabetes-Patienten betroffen, da sie eine signifikant höhere Restenoserate bei Stentimplantation aufweisen im Vergleich zu Nicht-Diabetikern (Sukhija et al., 2007).

Aufgrund dessen besteht eine Notwendigkeit neue Therapieverfahren zu entwickeln, um Patienten im Falle keiner Revaskularisierungsmöglichkeiten alternative Therapieoptionen anbieten zu können.

1.2. Das therapeutische Dilemma bei gleichzeitigem Vorliegen einer Mikro- und Makroangiopathie

Insgesamt sind ca. 12% der koronarkranken Patienten, die einer invasiven Intervention bedürfen, keine Kandidaten für eine Bypassoperation oder perkutane koronare Intervention (Mukherjee et al., 1999). Dies sind Patienten, die aufgrund ihrer Koronaranatomie, Ausprägung und Fortschritt der koronaren Herzerkrankung oder Begleiterkrankungen nicht für die konventionellen Therapien geeignet sind. So sind es Patienten mit diffuser Arteriosklerose, die von einem Bypass nicht profitieren, da die Gefäße bis in die Peripherie Engstellen aufweisen. Einen großen Anteil der Patienten ohne optimale Therapie sind Diabetiker, da sie häufig eine Kombination von Mikro- und Makroangiopathie aufweisen und deshalb von einem konventionellen Bypass nicht profitieren. Desgleichen kann kein Erfolg durch eine konventionelle Bypassoperation erzielt werden bei terminaler koronarer Herzkrankheit sowie bei Vorliegen einer schlechter Ventrikelfunktion.

Ein weiteres Problem stellen Bypassverschlüsse dar. Postoperativ liegen oft keine anastomosierbaren Gefäße mehr vor, um erneut einen Bypass anzulegen. Auch bei von vornherein zu kleinen Gefäßen ist dies nicht möglich.

Für all diese Patienten gibt es noch kein zufriedenstellendes therapeutisches Konzept. Über 100 000 Patienten fallen in diese Rubrik der sogenannten „no-option“-Patienten (Mukherjee et al., 1999). Für diese müssen alternative Behandlungsmethoden gefunden werden. Aufgrund der zunehmenden Zahl von Diabetikern und kardiovaskulär Erkrankten, steigt die Nachfrage nach neuen Therapieoptionen. Auf der Suche nach Alternativen zur Verbesserung der Myokardperfusion gibt es bereits verschiedene Ansätze.

Ein Grundgedanke ist die Induktion einer Arteriogenese. Dabei werden vorbestehende arteriöläre Verbindungen vergrößert (Schaper, Buschmann, 1999), welches hauptsächlich durch die Scherkräfte durch den veränderten Blutfluss in einem stenosierte Gefäß hervorgerufen wird (Heil, Schaper, 2004). Insgesamt beschreibt die Arteriogenese einen aktiven Prozess von Proliferation und Remodeling, welcher zusätzlich durch Wachstumsfaktoren beeinflusst wird. Beispielsweise wird der GM-CSF (granulocyte-macrophage colony-stimulating factor) seit einigen Jahren zur Stimulation der Arteriogenese bei Patienten mit Leukopenie nach Chemotherapie eingesetzt (van Royen et al., 2005). Seiler et al. (2001) konnten als erste einen gesteigerten Kollateralfluss nach Applikation von GM-CSF bei koronarkranken Patienten nachweisen.

Ein weiterer möglicher Ansatz besteht in der Induzierung der Angiogenese, welche die Aussprossung von Kapillaren bezeichnet (Heil, Schaper, 2004). Die Angiogenese wird durch Wachstumsfaktoren beeinflusst, die bei Ischämie überexprimiert werden, wie zum Beispiel VEGF (vascular endothelial growth factor) und bFGF (basic fibroblast growth factor) (Westra et al., 2009). Bei der transmyokardialen Laserrevaskularisation werden mittels CO₂-Lasertechnologie kleine Kanäle durch das Myokard des linken Ventrikels geschossen (Mirhoseini et al., 1990). Die dadurch hervorgerufene perifokale Entzündung und Ausschüttung von Wachstumsfaktoren können die Angiogenese unterstützen (Boss et al., 2001). Die Arbeitsgruppe von Boss et al. (2001) konnte eine Neo-Angiogenese nachweisen, was im einzelnen Symptome gelindert hat, aber die Pumpleistung nicht verbessern konnte. Die Methode scheint noch nicht ausgereift, so wurden bereits nach 6 Wochen verschlossene Kanäle vorgefunden. Es wird vermutet, dass dieses Verfahren nicht derart erfolgreich ist, da für eine Angiogenese im ischämischen Myokard ein gewisser Blutfluss vorhanden sein muss, welche bei dem oben genannten Verfahren nicht gegeben war (Oesterle et al., 2001). Moosdorf et al. (1997) empfahlen diese Behandlungsweise in Kombination mit einer Bypassmethodik, jedoch ebenfalls

als eigenständige Methode für Patienten, die refraktär zu konventionellen Therapien sind. Zunächst müssen jedoch zu diesem Ansatz Indikationen, pathophysiologische Mechanismen und Langzeitfolgen definiert werden, bevor es zu einer standardisierten Methode etabliert werden kann (Moosdorf et al., 1997).

Ein anderes neues Konzept ist der Einsatz eines V-Stent, welches einen Stent bezeichnet, der den linken Ventrikel mit dem Ramus interventricularis anterior (RIVA) distal einer induzierten hochgradigen Stenose verbindet. Bei Versuchen mit dieser Methode konnte eine regionale Myokardfunktion von 71% gegenüber dem Ausgangswert festgestellt werden. Der Wert konnte durch einen Klappenmechanismus, der den diastolischen Rückfluss aus dem linken Ventrikel minimiert, noch weiter verbessert werden (Sandner, 2008). Auch dieses Verfahren ist noch in der experimentellen Phase.

Auf der Suche nach alternativen Therapieoptionen, wird die venöse Revaskularisation als Therapieoption zunehmend wieder aufgegriffen.

1.3. Therapieoption - venöse Revaskularisation

Die Ursache der koronaren Herzkrankheit liegt in der Ausbildung der Arteriosklerose in den großen (Makroangiopathie) als auch in den kleinen Koronararterien (Mikroangiopathie). Venen hingegen weisen keine arteriosklerotischen Veränderungen auf (Arealis et al., 1973, Bhayana et al., 1974). Darüber hinaus besitzen Venen größere Gefäßlumina als Arterien. Diese Tatsachen lassen die Koronarvenen als anastomosierbare Gefäße als gute Alternative zu den arteriosklerotischen Koronararterien bei Bypassoperationen erscheinen, vorausgesetzt es gelingt, die Strömungsrichtung umzukehren.

Bereits in den 70er Jahren gab es viele Versuche das Myokard über das venöse Koronarsystem mit sauerstoffreichem arteriellem Blut zu versorgen. Als Kriterien für die venöse Revaskularisation galt das Vorliegen zu kleiner Koronarien für eine Anastomose oder eine schwere diffuse Arteriosklerose mit guter Ventrikelfunktion (Gardner et al., 1974). Ebenfalls wurde die venöse Revaskularisation eingesetzt bei nicht erfolgreicher konventioneller Bypassoperation (Hochberg et al., 1979) oder bei Ersatz eines endarterieektomierten Gefäßes (Benedict et al., 1975).

Pratt et al. (1989) versuchten anfangs den Sinus coronarius komplett retrograd zu revaskularisieren, welches eine sehr hohe Mortalitätsrate hatte, da es zu einer venösen Abflussstauung kam. In Anlehnung daran versuchten Gardner et al. (1974) allein die Vene des RIVA mit der linken Arteria mammaria zu anastomosieren. Das bessere Ergebnis beruht wahrscheinlich

darauf, dass für den venösen Abfluss noch genügend andere Venen und insbesondere der Sinus coronarius vorhanden waren (Gardner et al., 1974).

Benedict et al. (1975) hatten ebenfalls Erfolg bei dem Versuch die Koronarvenen mit arteriellem Blut zu versorgen, verwendeten allerdings die Vena saphena als Graft von der Aorta zur Koronararterie. Bei Studien mit Patienten empfahlen Benedict et al. allerdings die Anzahl der Revaskularisation auf maximal zwei Anastomosen zu begrenzen, da sonst der venöse Abfluss nicht garantiert wäre. Auch Treistmann et al. (1978) versuchten die Vena saphena mit der Begleitvene des RIVA zu anastomosieren. Bei der Operation eines einzelnen Patienten konnte leider nicht genau differenziert werden, welche Methode zum Erfolg führte, da sie mit einem weiteren Bypass auf der linken Koronararterie und einer Aneurysmektomie kombiniert wurde. Rhodes et al. (1978) legten einen Shunt zwischen der Aorta und der Vena cardiaca magna bei Hundeherzen. Dabei wurden der RIVA im mittleren Drittel und die Vena cardiaca magna proximal ligiert. Durch die Revaskularisierung konnte fast 50% des reduzierten Blutflusses nach Ligatur des RIVA wiederhergestellt werden. Des Weiteren erfolgreich konnten Meerbaum et al. (1976) eine signifikante Wiederherstellung von ischämischen Bereichen feststellen bei Arterialisierung der Begleitvene des RIVA bei temporärer Stenose des RIVA. Trotzdem gab es einige Wissenschaftler, die von der Prozedur abrieten aufgrund von Verschluss und Fibrose der Venen (Marco et al., 1977, Zajtchuk et al., 1976). Die Ursache der unterschiedlichen Ergebnisse ist breit gefächert. Unter anderem ist die Technik der Anastomose, Lage der Ligatur und Auswahl des Grafts entscheidend.

Aus den teilweise positiven Ergebnissen entwickelte sich die direkte Revaskularisierung, eine Anastomose zwischen einem Bypassgraft und einer Koronararterie, und etablierte sich zur Standardtherapie. Das ist sie auch heute noch bei Mehr-Gefäß-Erkrankungen. Mit dieser Entwicklung geriet die indirekte Revaskularisierung in den Hintergrund. Da jedoch trotz technischem Fortschritt nach wie vor einer großen Zahl von Patienten nicht effektiv geholfen werden kann, wurde die venöse Revaskularisierung bei der Forschung nach Alternativen wieder aufgegriffen.

Inzwischen setzen sich Wissenschaftler wieder mit diesem Thema auseinander. Zum Beispiel versuchte Oesterle et al. (2001) durch Herstellung einer proximalen Verbindung zwischen dem RIVA und der Begleitvene mithilfe von standard angioplastischer Technik diese Vene retrograd zu revaskularisieren. Dabei wurde die Begleitvene proximal ligiert um einen Rückfluss in den Sinus coronarius zu verhindern. Diese Methodik wurde bisher an einem einzelnen Patienten angewandt, welche zum Teil erfolgreich war. Dennoch ist das Konzept noch nicht validiert, da noch keine Langzeitergebnisse vorhanden sind.

Bei dem Großteil der Versuche wurde die venöse Revaskularisation bei Vorliegen einer Makroangiopathie untersucht, jedoch nicht mit zusätzlicher Mikroangiopathie. Die venöse Revaskularisierung bei Vorliegen dieser Kombination wurde noch nicht systematisch untersucht.

1.4. Vorversuch

Der Versuch dieser Arbeit baut auf dem Versuch von Resetar et al. (2007): „Selektive Arterialisierung einer Herzvene in einem Modell kardialer Mikro- und Makroangiopathie im Schaf“ auf. In diesem wurde erstmals bei Vorliegen einer Mikroangiopathie und einer Makroangiopathie eine Koronarvene revaskularisiert. Das Experiment wurde als Akutversuch im Schafmodell durchgeführt. Dabei wurde eine Mikroangiopathie durch Injektion von Mikrosphären induziert. Als Mikrosphären wurden kleine Glaskügelchen mit einem Durchmesser von 100µm verwendet, um die präkapillären Arteriolen zu verschließen als Induktion der Mikroangiopathie. Nach einer Stunde Adaptationszeit wurde ein Ballon von 4 ml Volumen auf den proximalen Bereich des RIVA aufgelegt und mit einem Tourniquet befestigt. Mit einem Mindeststenosegrad von 65% wurde die Makroangiopathie simuliert. Es folgte die Anastomose der Arteria mammaria sinistra auf die Begleitvene des RIVA 1cm distal der Stenose des RIVA. Zudem wurde die Vene proximal der Anastomose ligiert. Damit konnte eine Umkehr des Blutflusses in der Vene erreicht werden, welches angiographisch dargestellt wurde. Nach der Ultraschallflussmessung des Bypasses wurde der Ballon wieder entfernt und nach 15 Minuten sämtliche Messungen erneut durchgeführt. Mit Erfolg konnte eine verbesserte Kontraktilität des Myokards beim Vorliegen einer akuten Mikro- und Makroangiopathie durch die venöse Revaskularisation festgestellt werden.

Die vielversprechenden Ergebnisse des Akutversuchs sollten nun im chronischen Modell untersucht werden, um herauszufinden ob die Methodik auch über einen längeren Zeitraum effektiv ist.

In der vorliegenden Arbeit wurden Minipigs anstatt Schafe wie im Vorversuch verwendet. Minipigs sind leichter, haben weniger Probleme mit Wundheilungsstörungen und Verwachsungen als Schafe. Die geringere Behaarung erleichtert das sterile Operieren. Dadurch, dass Minipigs keine Wiederkäuer sind, bläht sich der Magen während der Operation weniger auf. Im Versuch dieser Arbeit wurde eine Mikroangiopathie durch die Injektion von Mikrosphären induziert und anschließend 7 Wochen zur Krankheitsentwicklung gegeben. Dieses Krankheitsmodell soll die chronische Mikroangiopathie realer darstellen.

Nach Induktion und gleichzeitiger Therapie der Makroangiopathie wurde ein Zeitraum von 3 Monaten als Follow-up gewählt, da mögliche Komplikationen und histologische Veränderungen bereits in diesem Zeitraum auftreten sollten.

Bypass-Verschlüsse sind besonders bei Venengrafts eine häufige Komplikation. Ein Verschluss des Bypasses tritt bei 3-12 % der Vena saphena grafts innerhalb des ersten Monats auf (Fitzgibbon et al., 1996). In diesem Stadium handelt es sich meistens um eine Bypassstromeose (Vlodaver, Edwards, 1973). Die Thrombose ist verursacht durch Veränderungen in der Gefäßwand, die veränderte Hämodynamik und Rheologie (Motwani, Topol, 1998). Die bei der Präparation und Implantation des Bypassgrafts hervorgerufenen Endotheldefekte begünstigen eine Thrombose im selbigen.

Die Prozesse des Umbaus des Gefäßsystems beginnen unmittelbar nach Einsetzen der Ischämie. Dabei können Kollateralbildungen stattfinden, wobei unterschieden wird, ob die Gefäße durch Angiogenese oder Arteriogenese hervorgegangen sind. Nicht nur die Auslösefaktoren, sondern auch die Funktionalität ist bei den Gefäßen sehr unterschiedlich. Bei den funktionell wichtigeren Kollateralgefäßen handelt es sich um Gefäße, die durch Arteriogenese, die aktive Erweiterung von vorbestehenden Gefäßen, hervorgegangen sind (Schaper, Buschmann, 1999). Innerhalb von 3 Wochen kann sich der Gefäßdurchmesser verzehnfachen (Siegenthaler, Blum, 2006), sodass diese ebenfalls im gegebenen Zeitrahmen sichtbar wären.

Die histologischen Untersuchungen geben Einblicke in die strukturellen Veränderungen der Gefäße. Bei venösen Bypassgrafts wird häufig eine Intimahyperplasie beobachtet, die wahrscheinlich durch Endothelverletzungen durch das Operationstrauma hervorgerufen wird (Motwani, Topol, 1998). Dies kann bereits in den ersten postoperativen Wochen histologisch erfasst werden (Cox et al., 1991). Besonders starke lokale Proliferationsvorgänge zum Beispiel im Anastomosenbereich können zu Bypass-Verschlüssen führen (Vlodaver, Edwards, 1971).

Wichtig zur Einschätzung der Effektivität der Methodik der vorliegenden Arbeit ist außerdem die Beurteilung des venösen Abflusses. Durch die Arterialisierung der Begleitvene des RIVA, muss das venöse Blut über die umliegenden venösen Gefäße gewährleistet werden. Dass der Venenabfluss im akuten Versuch funktioniert hat, ist gezeigt worden. Wie sich dieser jedoch im weiteren Verlauf verhält ist unklar. Dies sollte im gegebenen Zeitrahmen beurteilt werden.

Um Herauszufinden, ob die venöse Revaskularisation auch über den Akutversuch hinaus Effektivität zeigt, wurde das chronische Modell gewählt. Eine vorbestehende Mikroangiopathie über 7 Wochen mit einem akuten Verschluss des RIVA soll den Diabetiker mit chronischer

Mikroangiopathie und akuter Koronarstenose simulieren. Durch die Follow-up-Untersuchung 3 Monate nach venöser Revaskularisation soll gezeigt werden, ob die Methode eine effektive Behandlungsmöglichkeit darstellt, indem erste Komplikationen und histologische Veränderungen untersucht werden. Das Modell ist Voraussetzung zur Abschätzung von Langzeitfolgen dieser Methode und gleichzeitig für Langzeituntersuchungen der venösen Revaskularisation.

1.5. Fragestellung

Im Rahmen dieser experimentellen Arbeit sollte untersucht werden, ob sich die positiven Ergebnisse des Akutversuchs im chronischen Modell bestätigen.

Dabei handelte es um die Frage, ob die venöse Revaskularisation bei Vorliegen einer Mikro- und Makroangiopathie im chronischen Modell eine effektive Therapie darstellt.

Dazu wurden 24 Münchner Minipigs in zwei Gruppen (Therapiegruppe, Kontrollgruppe) operiert. In beiden Gruppen wurde zunächst durch Injektion von Mikrosphären in den linken Hauptstamm eine Mikroangiopathie erzeugt. Nach 7 Wochen wurde bei beiden Gruppen eine hochgradige proximale Stenose des RIVA durch Unterstechung hervorgerufen. Anschließend wurde die Therapiegruppe mit einem Bypass versorgt. Dabei wurde die linke Arteria mammaria mit der Begleitvene des RIVA anastomosiert. Die Kontrollgruppe blieb ohne Therapie. Nach 17 Wochen wurden in beiden Gruppen die Stenose und in der Therapiegruppe der Bypass angiographisch untersucht und weitere hämodynamische Parameter bestimmt.

Dabei sollte die Entwicklung der Ejektionsfraktion in Betracht gezogen werden als Maß für die Herzleistung im Vergleich der beiden Gruppen, außerdem die Funktionalität und Offenheitsrate des arteri coronaren Bypasses nach 3 Monaten.

Zusatzfragestellung:

Zudem sollten die histologischen Veränderungen im Myokard nach venöser Revaskularisation analysiert werden.

Dabei wurden Gewebestücke aus dem Bereich der Anastomose, des linken und rechten Ventrikels und des Septums vergleichend beider Gruppen mikroskopisch untersucht. Bei der Untersuchung wurden die Wanddicken und die Gefäßlumina von arteriellen und venösen Gefäßen bestimmt, um eventuelle histologische Veränderungen durch die venöse Revaskularisation beurteilen zu können.

2. Methodik

2.1. Versuchskonzept

Die Durchführung der Tierversuche wurde beim Regierungspräsidium Leipzig beantragt und nach § 8 Abs. 1 des Tierschutzgesetzes in der Fassung der Bekanntmachung vom 29.05.1998 vom Regierungspräsidium mit der Auftragsnummer TVV Nr. 12/05 genehmigt. Die Tiere wurden vor und nach den Versuchen in Ställen der Tierklinik der Universität Leipzig entsprechend des Tierschutzgesetzes gehalten.

Im Folgenden soll eine summarische Skizze dargestellt werden.

Der Versuch verlief über 17 Wochen in 3 Versuchsteilen in definierten Intervallen. Es wurden insgesamt 24 Schweine operiert, so genannte Minipigs. Die in diesem Versuch verwendeten Münchner Minischweine wurden vom Züchter TVA Düsseldorf bezogen. Minipigs sind kleinere Schweine, die aufgrund ihrer Herzgröße, Koronarmorphologie und Kollateralen für Versuche am Herzen gut geeignet sind. In diesem Versuch wurden Münchner Minipigs ausgewählt, da diese Tiere eine geringe kardiale Vulnerabilität und einen schlanken Körperbau mit geringem Fettansatz aufweisen.

Die Tiere wurden in zwei Gruppen eingeteilt: Therapie- und Kontrollgruppe.

Zielsetzung der Versuche war nach Induzieren einer Mikro- und Makroangiopathie den Erfolg weiterer Interventionen zu vergleichen.

Im ersten Versuchsteil wurden allen Tieren beider Gruppen Mikrosphären (Glass Microspheres, Durchmesser 100µm) über den Hauptstamm in die linke Herzkranzarterie injiziert, um eine Mikroangiopathie als Modell einer „small vessel disease“ hervorzurufen.

Nach 7 Wochen im zweiten Versuchsabschnitt wurde eine Makroangiopathie erzeugt, indem der Ramus interventricularis anterior (RIVA) stenosierte wurde. Anschließend wurde in der Therapiegruppe die Begleitvene des RIVA im mittleren Drittel ligiert und distal davon eine Anastomose zwischen der Arteria mammaria sinistra und dieser Vene hergestellt. Dadurch floss arterialisiertes Blut durch die Vene und der Blutfluss in der Vene wurde umgekehrt.

Bei den Tieren der Kontrollgruppe wurde lediglich die Stenose des RIVA hervorgerufen ohne nachfolgenden Bypass.

Nach 17 Wochen im dritten Versuchsabschnitt wurde bei den Tieren beider Gruppen eine Herzkatheteruntersuchung durchgeführt zur Darstellung der Stenose beider Gruppen und den Bypass der Therapiegruppe. Anschließend wurden die Tiere unter Einhaltung des Tierschutzgesetzes euthanasiert durch Injektion von T 61®. Die Herzen wurden für histologische Untersuchungen entnommen.

Schematische Darstellung eines Versuchsablaufs:

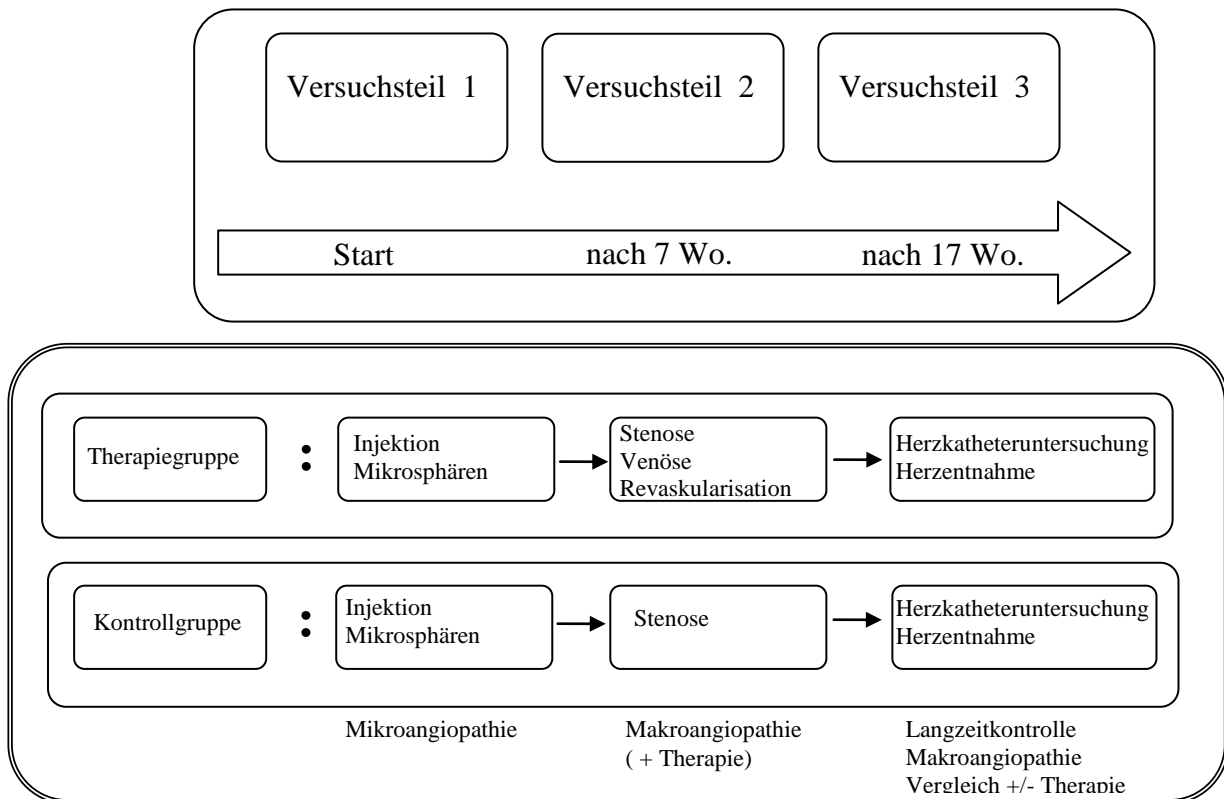


Abbildung 1: Schematische Darstellung des Versuchsdurchgangs

2.2. Versuchsbeschreibung

2.2.1. Vorgehensweise vor der Operation

2.2.1.1. Vorbereitung

An allen Tagen der Versuchsreihe standen den Tieren Futter und Wasser in den Ställen der Tierklinik ständig bereit. An den Versuchstagen vor der Operation befand sich das jeweilige Versuchstier unter Nahrungskarenz und erhielt ausschließlich Wasser.

Zunächst wurde das Schwein im Stall der Tierkliniken medikamentös mit 4-8 mg/kg i. m. Azaperon für den Transport in den Tier-OP im Herzzentrum sediert. Dort wurde es auf den Operationstisch in Bauchlage gelegt und ein mehrlumiger Katheter in eine Ohrvene (Vena auricularis) zur Gabe von Medikamenten eingeführt.

Die Narkose wurde, wie im folgenden Abschnitt 2.2.1.2 beschrieben wird, eingeleitet. An jeder Extremität wurde eine EKG-Elektrode angelegt. Mit den vier Ableitungen wurde die elektrische Aktivität der Herzmuskelfasern während des Versuchs durchgängig überwacht.

Anschließend wurde das Tier in Rückenlage fixiert und mit elastischen Binden an den Extremitäten am Operationstisch befestigt.

Nachfolgend wurde eine Echokardiographie mit Standardeinstellungen durchgeführt.

Daraufhin wurde das Tier am Operationsgebiet an den Leisten und Thorax (Versuchsteil 2, Versuchsteil 3) sorgfältig rasiert und gereinigt. Die Haut wurde mit Betaisodonalösung desinfiziert und das Patch für den Kauter wurde auf die rechte Seite des Bauches aufgeklebt und anschließend steril mit Operationstüchern abgedeckt. Das Instrumentarium wurde bereitgelegt.

2.2.1.2. Narkose

Die Medikation der Narkose wurde in allen drei Versuchsteilen einheitlich durchgeführt. Die Narkosedauer unterschied sich entsprechend der Versuchsdauer. Im Versuchsteil 1 und 3 wurde die Narkose ca. eine Stunde und im Versuchsteil 2 ca. vier Stunden durchgeführt.

Die Narkose wurde eingeleitet mit 10 mg/kg i. m. Ketamin und 4 mg/kg i. v. Thiopental. Es folgte die Intubation mit einem blockbaren 6 oder 7 Ch Tubus, welcher mit einem Pflaster gesichert wurde. Der Tubus wurde an das Beatmungsgerät angeschlossen. Die Tiere wurden endotracheal beatmet mit 100% Sauerstoff und Zumischung von Isofluran. Mit 1,8 % Volumen Isofluran vom Gasmischung wurde die Narkose begonnen und mit 0,5-1 % Volumen aufrechterhalten. Der expiratorische CO₂ wurde ab diesem Zeitpunkt kontinuierlich kontrolliert. Durch regelmäßige Blutgasanalysen wurden die Blutgase, Elektrolyte, pH-Wert überwacht, außerdem der Blutdruck und Herzfunktion durch die Elektrokardiographie und die arterielle Blutdruckmessung.

Die Atemfrequenz wurde mit 12 pro Minute und PEEP mit 5 mbar eingestellt.

Nach Beendigung der Versuche wurde die Narkose ausgeleitet, indem das Narkosegas abgedreht wurde und mit Sauerstoff manuell beatmet wurde bis ausreichend Spontanatmung und der Schluckreflex vorhanden war.

2.2.2. Medikation

Im Versuchsteil 2 wurde dem Tier präoperativ 0,4 mg/kg i. m. Meloxicam zur Reduktion von Entzündungssymptomen gegeben, außerdem 2,5 mg/kg i. m. Enrofloxacin zur Infektprävention. 50 mg/kg i. m. Metamizol-Na ist aufgrund der analgetischen, antipyretischen, antiphlogistischen und spasmolytischen Wirkung appliziert worden. Außerdem wurde vor der

Operation 0,1 mg/kg Pancuroniumbromid i. v. gegeben zur Muskelrelaxierung. Gleichzeitig wurden 2500 IE Heparin i. v. verabreicht um eine Thrombusbildung zu verhindern, ebenfalls in allen Versuchsteilen einmalig 5000 IE vor der ersten Herzkatheteruntersuchung.

Um den Flüssigkeitshaushalt aufrecht zu erhalten, wurde während der Operation eine Gelafusal-Infusion mit 10ml/kg/h infundiert. Die Gelafusal-Infusion dient zum Elektrolyt- und Wasserausgleich. Der Elektrolytverlust ist bedingt durch das Verdunsten von Flüssigkeit bei offenen Operationswunden.

Aufgetretene Herzrhythmusstörungen nach Injektion der Mikrosphären oder intraoperativ nach Stenosierung des RIVA wurden medikamentös folgendermaßen behandelt.

Bei Herzflimmern wurde 0,6-0,8 ml/kg über 5-15 min i.v. Magnesiumsulfatheptahydrat gegeben. Bei tachykarden Herzrhythmusstörungen wurde 5 mg/kg Amiodaronhydrochlorid und bei ventrikulären tachykarden Herzrhythmusstörungen 2-4mg/kg Lidocainhydrochlorid appliziert. In einigen schwerwiegenden Fällen wurde mittels Defibrillation versucht wieder einen Sinusrhythmus herzustellen.

Bei starkem Blutdruckabfall wurde mit 3-5µg/kg Epinephrinhydrochlorid behandelt. Zur kurzzeitigen Blutdrucksteigerung und bei Hypocalciämie wurde ein Bolus von 0,5 g i.v. Calciumgluconat langsam injiziert, gegebenenfalls weitere Dosen nach Bedarf.

Orciprenalinsulfat wurde bei Bradykardie mit 0,25 mg i.v. eingesetzt. Es ist ein Sympathikomimetikum und steigert den Herzschlag inotrop, chronotrop und dromotrop.

Eine Infusion Inzolen® (KCl, MgCl₂, CuCl₂, ZnSO₄) wurde angelegt zum Kaliumausgleich bei Kaliumverlust. Die Dosierung wurde folgendermaßen berechnet: die Differenz (Sollwert Kalium - gemessenes Kalium aus Blutgasanalyse) x 0,3 x Körpermasse (kg). Das Ergebnis ist die zu infundierende Menge. Zum Elektrolytausgleich und bei gleichzeitig niedrigen Glucosewerten wurde eine Infusion PG 5 (Polyonique Glucose 5%) unter Kontrolle des Blutzuckerspiegels mit 5-10 ml/kg/h gegeben.

Als Analgetikum wurde Fentanyl in einer Dosierung von 2-5 µg/kg eingesetzt.

Zur Infektionsprophylaxe wurde in einigen Fällen 10 mg/kg Neomycin gegeben, ein Aminoglykosid-Antibiotikum, welches gegen gramnegative und grampositive Erreger wirkt.

Alle operierten Versuchstiere bekamen zwischen allen Versuchsteilen täglich 100 mg Acetylsalicylsäure i. m. gespritzt um eine Thrombenbildung, die eventuell den Bypass verschließen könnte, zu verhindern.

Zwischen allen Versuchsteilen wurden die Tiere täglich tierärztlich kontrolliert.

2.2.3. Versuchsprotokoll

2.2.3.1. Versuchsteil 1: Induktion der Mikroangiopathie durch Mikrosphären

Nach oben beschriebener Vorbereitung wurde ein arterielles Leistengefäß frei gelegt unter der Berücksichtigung, den Nervus femoralis unverletzt zu lassen. Das Operationsgebiet wurde durch einen Wundspreizer offen gehalten. Die Katheterschleusen wurden in die Arteria femoralis eingebracht für die Herzkatheteruntersuchung und zur Messung des mittleren arteriellen Blutdrucks.

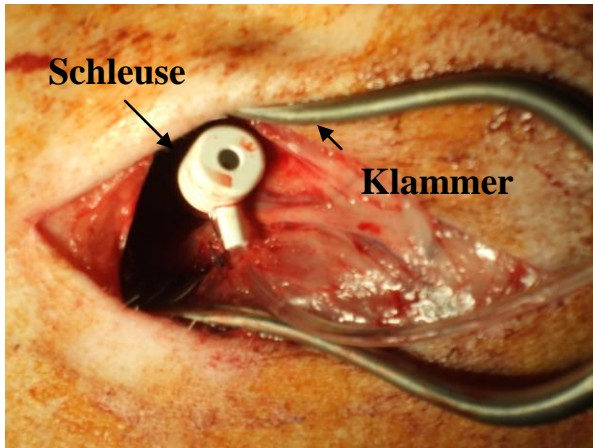


Abbildung 1: Schleuse in Femoralarterie durch Wundspreizer offen gehalten

Es folgte eine Herzkatheteruntersuchung mit jodhaltigem Kontrastmittel, visualisiert durch Standard Kathetertechnik. Um eine Mikroangiopathie hervorzurufen wurden 8000 Mikrosphären in 5 ml 0,9 %ige Natriumchloridlösung über die Schleuse in der Femoralarterie in den Hauptstamm injiziert. Zielgebiet der Mikrosphären ist das gesamte Versorgungsgebiet der linken Koronararterie.

Die in diesem Versuch verwendeten Mikrosphären sind Glaskügelchen mit einem Durchmesser von 100 μm . Nach Applikation setzen sie sich durch Mikroembolisation in Gefäßen $\leq 100\mu\text{m}$ im Kapillarbett fest. Die Anzahl der Mikrosphären in den verschiedenen Regionen des Herzens ist proportional zur jeweiligen Durchblutung der Region.

Anschließend wurde erneut eine Herzkatheteruntersuchung durchgeführt.

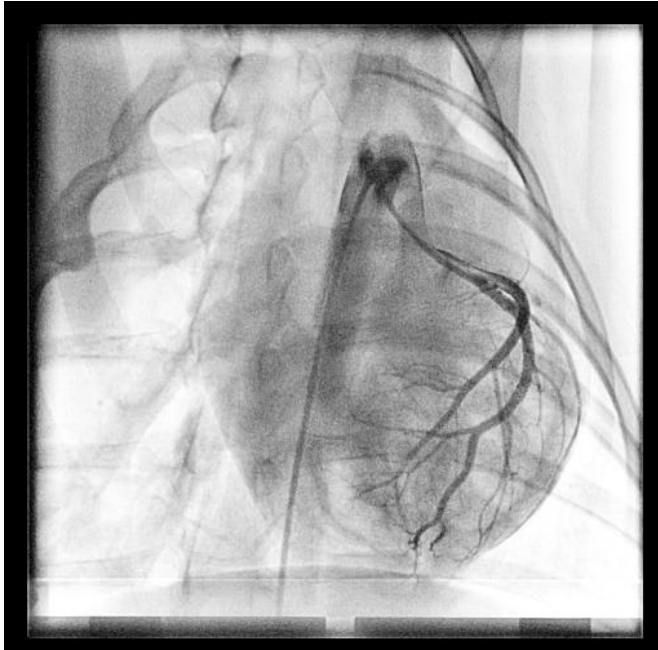


Abbildung 2: Ausschnitt aus Herzkatheteruntersuchung nach Injektion Mikrosphären

Nachfolgend wurden der Katheter und die Schleuse entfernt. Die Wunden wurden nach sorgfältiger Blutstillung schichtenweise verschlossen. Ein Sprühverband (Aluminiumspray) wurde auf die durch eine Hautnaht verschlossene Wunde aufgetragen. Der Eingriff dauerte ca. eine Stunde.

Daraufhin wurde das Tier in die Tierklinik in einen einzelnen Stall mit Rotlichtlampe gebracht. Am darauf folgenden Tag kam das Tier wieder in den Stall mit den anderen Tieren.

Das Schwein wurde am Operationstag und den darauf folgenden Tagen bis zur Heilung der Wunde täglich tierärztlich untersucht.

2.2.3.2. Versuchsteil 2: Herzinfarkt, venöse Revaskularisation (Therapiegruppe)

7 Wochen nach Versuchsbeginn wurde die Operation zum Hervorrufen einer Makroangiopathie durchgeführt und die Gruppe der venösen Revaskularisation anschließend mit einem Bypass versorgt.

Bei der Vorbereitung wurde analog zum ersten Versuchsteil vorgegangen (2.2.1.1.), wobei die Seite des Leistengefäßes gewechselt wurde.

Daraufhin wurde eine anterolaterale Minithorakotomie linksseitig im 5. Interkostalraum durchgeführt mit einem Hautschnitt von ca. 5 cm Länge. Die Koagulation von kleinen Gefäßen erfolgte mit einem Elektrokauter. Der Thorax wurde mittels eines Thoraxspreizers im 5. Interkostalraum offen gehalten.

Es folgte die Präparation der linken Arteria mammaria interna mit Clippen ihrer Seitenäste. Dabei wird die Lunge vorsichtig mit einem breiten Lungenspatel über einem feuchten Bauchtuch verdrängt, um einen besseren Zugang zu verschaffen.

Anschließend wurde das Perikard mit einer Schere geöffnet ohne das darunter liegende Myokard zu verletzen und mit einer Naht am externen Thorax fixiert. Nach Aufsuchen des Ramus interventricularis anterior wurden die Koronarien angiographisch dargestellt.

In der vorliegenden Arbeit wurde am schlagenden Herzen operiert ohne Einsatz der Herz-Lungen-Maschine. Um den zu operierenden Bereich ruhig zu halten und um präziser arbeiten zu können, wurde eine spezielle Stabilisierungshilfe am Herzen angebracht. Der so genannte Octopus® ist ein etabliertes Instrument in der beating heart Chirurgie und besitzt transparente bewegliche Ärmchen, die sich durch Unterdruck an dem platzierten Gebiet am Herz festsaugen. Damit wird die Region um das Herzkranzgefäß stabilisiert ohne die Auswurfleistung des Herzens kritisch zu beeinträchtigen.

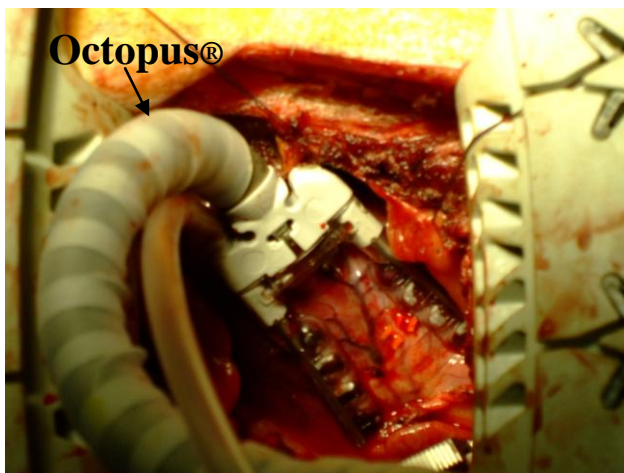


Abbildung 3: Foto OP-situs mit Octopus nach Stenosierung des RIVA

Der RIVA wurde für 2-3 mm von epikardialem Fettgewebe befreit. Um eine Makroangiopathie hervorzurufen, wurde der RIVA durch Unterstechung mit zwei halbkreisförmigen Gummiringen am Übergang vom proximalen zum mittleren Drittel mittels Naht stenosierte. Es wurde eine Stenose in einer Ebene zugeführt, um die Darstellbarkeit und Quantifizierung der Stenose in der angiographischen Untersuchung zu erleichtern.

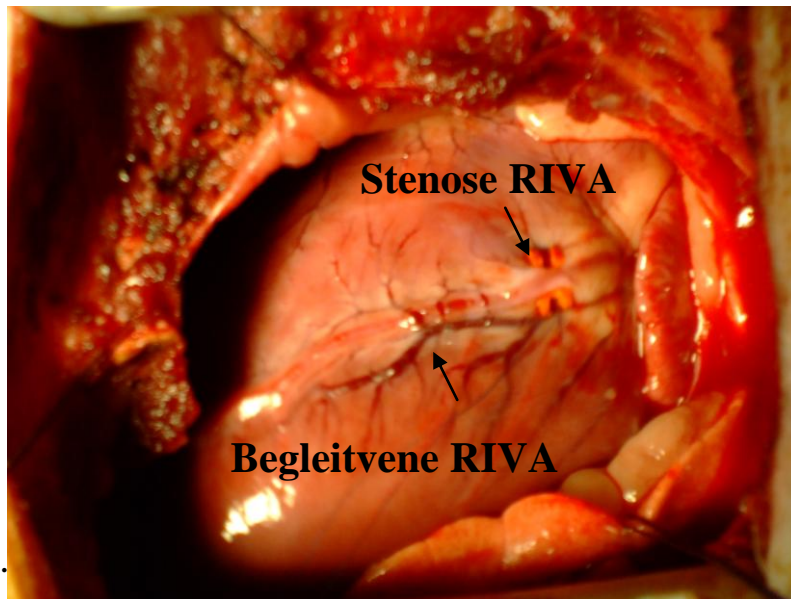


Abbildung 4: Foto OP-situs offener Thorax mit eröffnetem Perikard im Versuchsteil 2 nach Anlage der Stenose. Zu sehen der stenosierte Ramus interventricularis anterior (RIVA) durch 2 Gummiringe und die dazugehörige Begleitvene.

Die Signifikanz der Stenose wurde direkt im Anschluss durch eine Herzkatheteruntersuchung dargestellt und verifiziert. Die Stenose betrug im Durchschnitt $81,3 \pm 2,5 \%$, mindestens aber 59 %.

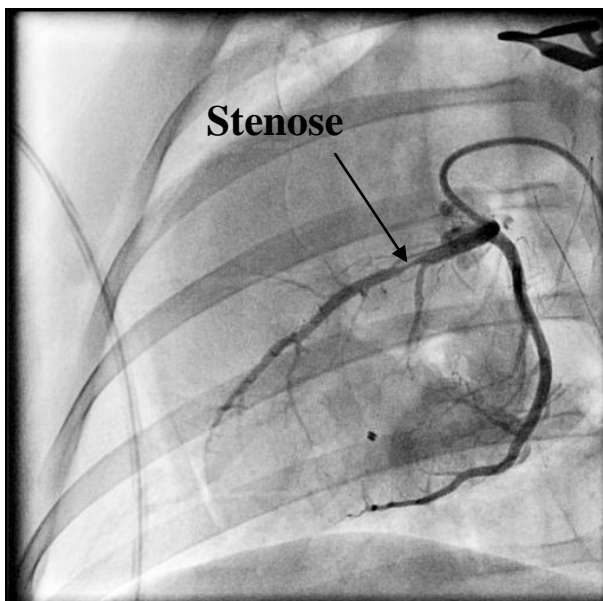


Abbildung 5: Ausschnitt aus Herzkatheteruntersuchung unmittelbar nach Stenose

Nach der Stenosierung des RIVA wurde eine Stunde Adaptationszeit zur Entwicklung des Infarkts gelassen. Für die Tiere der Kontrollgruppe wurde an dieser Stelle die Operation beendet, die Wunden nach sorgfältiger Blutstillung schichtenweise zugenäht, mit einer Hautnaht verschlossen und mit einem Sprühverband versorgt.

Für die Tiere der Therapiegruppe wurde nach folgenden Schritten fortgefahren.

Nach der Adaptationszeit folgten die Ligierung der Begleitvene des RIVA im mittleren Drittel und die Abklemmung am unteren Drittel. Die linke Arteria mammaria wurde daraufhin am schlagenden Herzen auf diese Begleitvene endzuseit anastomosiert. Die Abklemmung der Vene wurde aufgehoben und der Fluss freigegeben. Somit floss nun arterielles Blut durch die Vene und damit kehrte sich der Blutfluss in der Vene um.

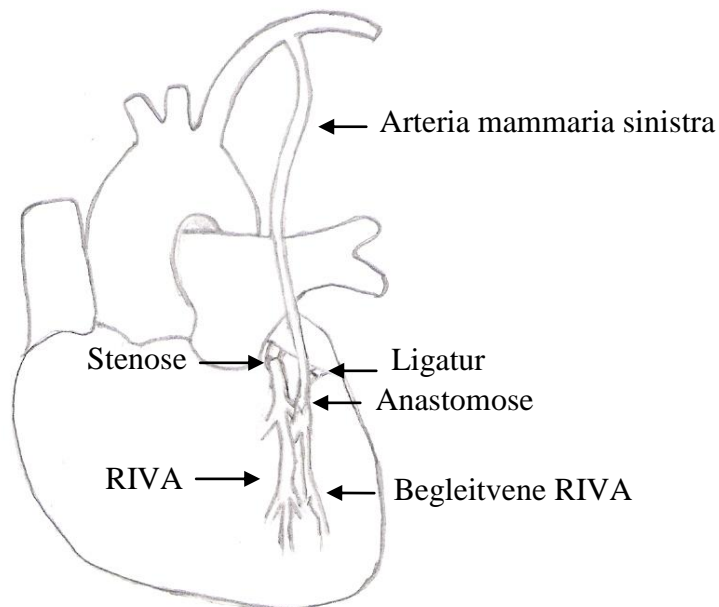


Abbildung 6: Skizze Anastomose zwischen Arteria mammaria sinistra und Begleitvene RIVA

Schließlich wurden die Anastomose und der Bypass angiografisch mit Standard Kathetertechnik dargestellt.

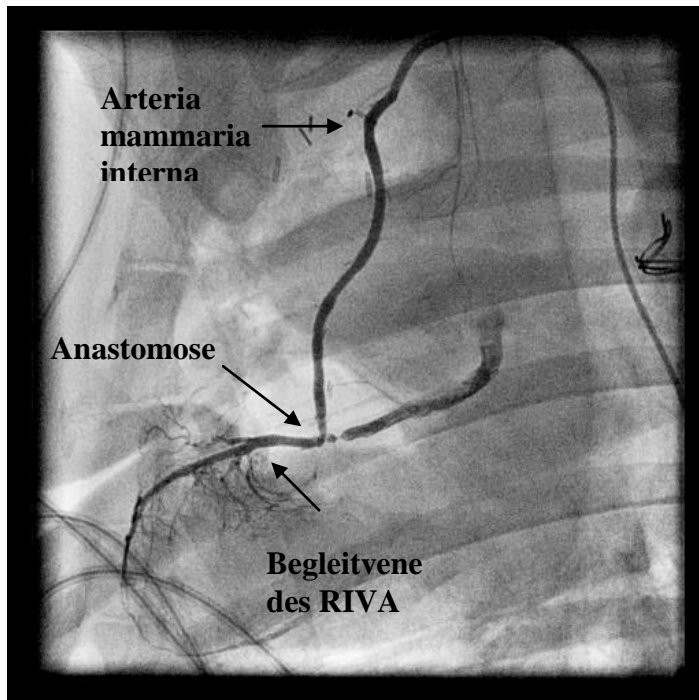


Abbildung 7: Ausschnitt aus Herzkatheteruntersuchung nach Anastomose der Arteria mammaria interna mit der Begleitvene des RIVA

Mit dem Ultraschallflussmessgerät wurde der Blutfluss pro Minute durch den Bypass bestimmt. Die Sonde wurde auf den Bypass proximal der Anastomose angelegt und so die Flussgeschwindigkeit des Blutes an dieser Stelle gemessen

Zum Schluss wurden die Wunden des Thorax und der Leiste nach sorgfältiger Blutstillung schichtenweise verschlossen und nach Hautnaht mit einem Sprühverband versorgt. Die Dauer der Operation betrug ca. 4 Stunden.

Das Versuchstier wurde nach der Operation in die Tierklinik in eine Einzelbox mit Rotlichtlampe gebracht. Am zweiten postoperativen Tag wurde es zu den anderen Tieren überführt. Wie nach dem ersten Versuchsteil wurde das Tier bis zur Wundheilung täglich tierärztlich untersucht.

2.2.3.3. Versuchsteil 3: Herzkatheteruntersuchung, Herzexplantation

Nach 17 Wochen im Versuchsteil 3 wurde das jeweilige Minipig analog zu den anderen Versuchsteilen vorbereitet (2.2.1.1.).

Zur Überprüfung der Stenose des RIVA und der Durchlässigkeit des Bypasses wurde eine Herzkatheteruntersuchung mit Standard Kathetertechnik durchgeführt.

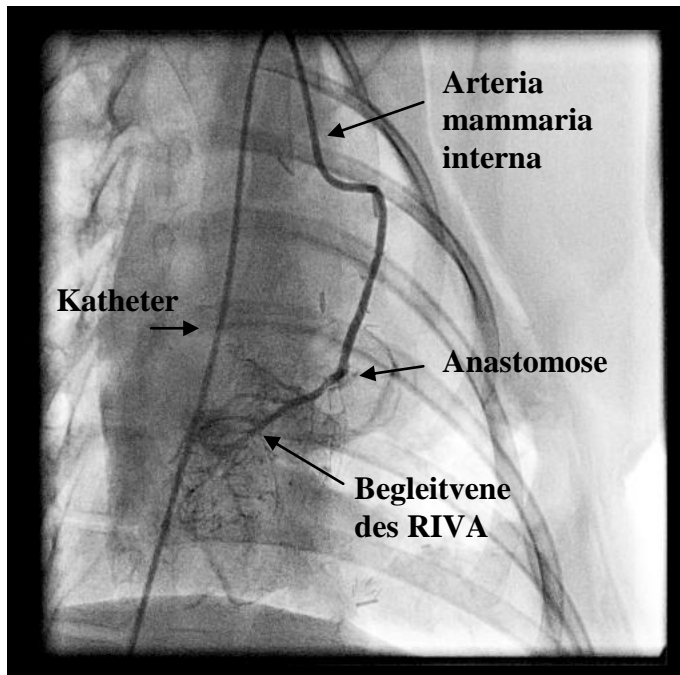


Abbildung 8: Ausschnitt aus Herzkatheteruntersuchung Versuchsteil 3

Durch eine mediane Sternotomie wurde sich Zugang zum Herzen verschaffen. Dabei wurden Haut und Unterfettgewebe durchschnitten und bis zur Knochenhaut des Sternums präpariert, wobei mit einem Elektrokauter die kleinen Gefäße verödet wurden. Von kranial und kaudal wurde mit dem Finger unter dem Sternum das Bindegewebe weggedrängt. Nun wurde mit einer Säge das Sternum längs durchtrennt. Mit einem Thoraxspreizer wurde der Brustkorb offen gehalten. Die geplante Flussmessung am Bypass der Arteria mammaria auf die Begleitvene des RIVA war aufgrund der ausgeprägten, zum Teil steinharten Verwachsungen technisch nicht möglich.

Am Ende der Versuchsreihe wurden allen Versuchstiere während der Narkose mit einer Injektion von 0,025 ml/kg T 61® euthanasiert.

Post mortem wurde das Herz nach der von Lower et al. (1965) beschriebenen Technik entnommen. Begonnen wurde mit der Durchtrennung der Lungenvenen am perikardialen Umschlagsrand, der Vena cava superior und der Aorta ascendens auf Höhe des Truncus brachiocephalicus und beendet mit der Durchtrennung der Pulmonalarterien distal der Bifurkation (Roskamm et al., 2004).

Für die histologischen Untersuchungen wurde anschließend aus dem Herzmuskel je ein 1cm x 1cm x 1cm großes Präparat Myokardgewebe aus dem rechten und linken Ventrikel, dem Septum und dem Bereich des Arteriocoronarbypasses herausgeschnitten. Das verbleibende Organ wurde bei -80 °C gelagert. Der Eingriff dauerte ca. eine Stunde.

2.3. Erhobene Parameter und Untersuchungen

Zeitpunkt	Versuchsteil 1		Versuchsteil 2 nach 7 Wochen			Versuchsteil 3 nach 17 Wochen
Zeitpunkt Parameter	Basis	15 min nach Mikro- sphären	vor Stenose	unmit- telbar nach Stenose	nach Bypass/ 90 min nach Stenose	Final
Echokardiographie	x		x			x
Herzkatheter- untersuchung	x	x	x	x	x	x
Ultraschall- Flussmessung					x	
Enzyme: CK,CKMB, Troponin T			x		x	
Elektrokardiogramm	x	x	x	x	x	x
Mittlerer arterieller Druck	x	x	x	x	x	x
Blutgasanalyse	x	x	x	x	x	x

Tabelle 1: erhobene Parameter und Untersuchungen während der Versuchsreihe in Bezug zum Zeitpunkt

2.3.1. Echokardiographie

Mithilfe der Echokardiographie ist es möglich die Kontraktilität des Myokards einzuschätzen. Die dabei zu bestimmende Größe ist die Ejektionsfraktion. Diese gibt Aufschluss über die Kontraktion des gesamten Myokards. Die Ejektionsfraktion ist der prozentuale Anteil des Schlagvolumens am enddiastolischen Ventrikelvolumens, der pro Herzschlag durch die Aorta gepumpt wird. Die Normwerte liegen bei > 55-60 %.

Die Ejektionsfraktion wurde zu Beginn des Versuchsteils 1 als Basisparameter bestimmt, im Versuchsteil 2 vor der Operation um Veränderungen der Ejektionsfraktion 7 Wochen nach Injektion der Mikrosphären zu erkennen. Nach 17 Wochen im Versuchsteil 3 wurde noch einmal eine Echokardiographie durchgeführt, um die Folgen der Makroangiopathie durch die Stenose mit und ohne nachfolgende Therapie aufzuzeigen.

Die Ejektionsfraktion wurde mittels M-Mode-Echokardiographie bestimmt. Der Schallkopf wird lateral auf die Brustwand aufgesetzt und der Zweikammerblick eingestellt. Zum Zeitpunkt der Endsystole und Enddiastole wird im M-Mode ein Standbild erzeugt, jeweils quer und längs.

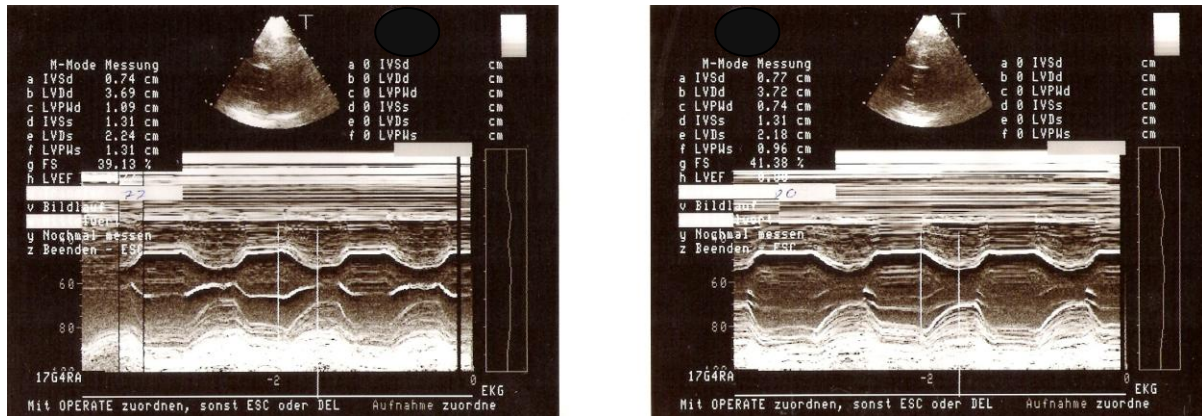


Abbildung 9: Darstellung der Standard-Einstellung zur Messung der Ejektionsfraktion des linken Ventrikel mit M-mode

In beiden Bildern wird der Durchmesser des linken Ventrikels in der Systole und Diastole ausgemessen. Das Computerprogramm, welches an das Ultraschallmessgerät angeschlossen ist, berechnet mit diesen Werten die Ejektionsfraktion.

$$FS = \frac{LVEDD - LVESD}{LVEDD} \times 100 \% \quad (\text{Siegenthaler, Blum, 2006})$$

FS = fraktionelle Verkürzung

LVEDD = linksventrikulärer enddiastolischer Durchmesser

LVESD = linksventrikulärer endsystolischer Durchmesser

Die relative Durchmesserverkürzung gilt als Maß für die systolische Funktion des linken Ventrikels.

2.3.2. Herzkatheteruntersuchung

Die Herzkatheteruntersuchung dient zur Darstellung der Koronararterien sowie des Bypasses. In jedem Versuchsteil wurde vor der Herzkatheteruntersuchung Heparin 1000 IE gespritzt, um eine Thrombenbildung zu verhindern. Im Versuchsteil 1 wurde vor und nach der Injektion der Mikrosphären eine Herzkatheteruntersuchung durchgeführt zur Erfassung von Veränderungen der Koronarien durch die Mikroangiopathie. Diese erkennt man anhand einer Flussverlangsamung in den großen Gefäßen. Kleine Gefäße lassen sich angiographisch nicht dar-

stellen, deshalb stellt die Fluss-Verlangsamung in den großen Gefäßen einen Hinweis auf eine Mikroangiopathie dar.

Im Versuchsteil 2 wurde nach Stenosierung des RIVA dieser zur Messung des Stenosegrades angiographisch dargestellt. Nach Anlage des Bypasses in der Therapiegruppe wurde ebenfalls der Bypass angiographisch aufgezeigt.

Im Versuchsteil 3 wurde die Herzkatheteruntersuchung wiederholt, um die Stenose des RIVA in beiden Gruppen und die Durchlässigkeit des Bypasses in der Therapiegruppe nach 10 Wochen zu beurteilen.

Bei der Herzkatheteruntersuchung wird eine Schleuse in die Arteria femoralis eingelegt. Die Schleuse ist eine Art Führungsschiene, über welche ein Führungsdraht platziert wird. Dieser röntgendichte Draht dient zur Führung des Katheters und besteht aus weichem Material zum Schutz vor Verletzungen der Gefäßinnenwände. Bei der Einführung des Drahtes wird mehrmals geröntgt, um die Position des Führungsdrahtes zu bestimmen (Röntgenkontrolle). Der Draht wird bis zum Bulbus der Aorta vorsichtig vorgeschoben. Sobald der Führungsdraht an dieser Stelle ist, wird der Katheter eingeführt bis er ebenfalls den Bulbus erreicht. Der Führungsdraht wird entfernt. Durch den Katheter wird Kontrastmittel injiziert und gleichzeitig Videosequenzen davon aufgezeichnet. Dabei ist erkennbar, dass das Kontrastmittel durch die Arterie und deren Äste fließt. Kontrastmittelaussparungen geben Aufschluss über Engstellen im Gefäß. Außerdem spielt der Kontrastmittelabfluss eine Rolle bei der Beurteilung der Gefäße.

Um den Bypass von der Arteria mammaria sinistra auf die Begleitvene des RIVA darzustellen, muss der Katheter in die Arteria subclavia sinistra eingeführt werden, um dort das Kontrastmittel zu injizieren. Auf diese Weise kann die Durchgängigkeit des Bypasses von der Arteria mammaria auf die Begleitvene des RIVA geprüft werden.

Nach Aufnahme der Bilder werden der Katheter und die Schleuse entfernt und die Arterie mit einer Naht (Prolene 6-0) verschlossen. Nach Blutrockenheit wird die Wunde schichtweise verschlossen.

2.3.3. Ultraschallflussmessung

Die Ultraschallflussmessung ist geeignet zur Bestimmung des Blutflusses pro Zeiteinheit in einem ausgewählten Gefäß, welche besondere Bedeutung bei der Anlage eines Bypasses hat. Damit kann die Durchlässigkeit des Bypasses geprüft werden.

Die Ultraschallflussmessung wurde im Versuchsteil 2 nach Anlage des Bypasses durchgeführt um dessen Funktionstüchtigkeit zu überprüfen.

Die Ultraschallsonde wurde proximal der Anastomose perivaskulär um den Bypass angelegt, um die Flussgeschwindigkeit zu messen.

2.3.4. Bestimmung der Enzyme

Es wurden die Konzentrationen der Enzyme Creatin-Kinase (CK), Creatin-Kinase vom Myokardtyp (CKMB) und das Troponin T im Blut untersucht, deren Werte bei Ischämie ansteigen. Die Konzentrationen sollten Aufschluss geben über die Größe und Zeitpunkt der Ischämie.

Blut wurde im Versuchsteil 2 vor Anlage der Stenose und 90 min nach Anlage der Stenose abgenommen.

Bei jeder Entnahme wurde ein Röhrchen Blut, welches 10 ml entspricht, aus den Katheterschleusen der Femoralarterien abgenommen. Anschließend wurden im Labor des Herzzentrums Leipzig die Konzentrationen der oben genannten Enzyme gemessen.

Das Troponin T wurde versucht mittels ELISA zu bestimmen. Dabei konnten leider keine Werte aufgrund fehlender Kompatibilität mit humanen Antikörpern ermittelt werden.

2.3.5. Elektrokardiographie

Das Elektrokardiogramm (EKG) wurde zum einen geschrieben zur Beobachtung der Herzaktivität während der Versuche und zum anderen zur Evaluierung der Ischämie nach Anlage der Stenose des RIVA durch Beurteilung der ST-Veränderungen. Die Elektrokardiographie verlief kontinuierlich von Anfang bis Ende jeden Versuchsteils.

Das Elektrokardiogramm wurde mit 4 Elektroden abgeleitet. Je eine Elektrode wurde mit Kontaktgel behaftet an den Extremitäten angebracht. Diese Ableitung gleicht der Extremitäten-Ableitung nach Einthoven.

Der Puls wurde durch den R-R-Abstand ermittelt. Die abgeleitete EKG-Kurve und der Puls wurden auf einen PC übertragen und kontinuierlich auf einem Monitor angezeigt.

2.3.6. Messung des mittleren arteriellen Blutdrucks

Der mittlere arterielle Druck dient zur Überwachung des Blutkreislaufs und wurde intravasal über eine Schleuse in der Arteria femoralis gemessen. Die so erfassten Werte wurden von einem Datenverarbeitungssystem gespeichert und auf einem PC übertragen, welcher die Werte auf einem Monitor kontinuierlich während aller Versuchsteile darstellte.

So konnten der systolische und diastolische Blutdruck gemessen werden. Daraus erfolgte die Berechnung des mittleren arteriellen Blutdrucks (MAP):

$$RRm = \frac{RRs - RRd}{3} + RRd \quad (\text{Siegenthaler, Blum, 2006})$$

RRm = arterieller Mitteldruck

RRs = systolischer arterielle Druck

RRd = diastolischer arterieller Druck

2.3.7. Blutgasanalyse

Zur Überwachung der Stoffwechsellage des Tiers wurden Blutgasanalysen durch das Gerät ABL 725 durchgeführt. Es wurden die Werte der Elektrolyte Natrium, Kalium, Chlorid und Calcium ermittelt, außerdem der pH-Wert, der partielle CO₂- Druck und partielle O₂-Druck, der Säure-Basen-Status, Hämatokrit, Glucose, Lactat.

Das Blut wurde aus der Arteria femoralis zu Beginn jeden Versuchsteils, sowie im Versuchsteil 2 vor, unmittelbar nach und 90 Minuten nach Anlage der Stenose und nach Anlage des Bypasses entnommen.

2.3.8. Entnahme Herz

Am Ende des Versuchsteils 3 wurden die Herzen der Tiere nach der Explantationstechnik von Lower et al. (1965) entnommen.

Nach Entnahme wurden 1cm x 1cm x 1cm Präparate Myokardgewebe an folgenden Stellen entfernt: rechter und linker Ventrikel, Ventrikelseptum im Bereich der Herzspitze und im Bereich der Anastomose. Diese Präparate wurden zunächst in Formalin eingelegt. Das Restorgan wurde bei – 80 °C gelagert.

2.4. Histologische Methodik und Auswertung

2.4.1. Herstellung der histologischen Schnitte

Die Präparate aus dem Herzen wurden nach 48 Stunden in Formalin (3,7%, neutral gepuffert, nach Lillie) für 21 Tage in 70%igen Ethanol eingelegt. Anschließend wurden die Präparate mithilfe des Tissue Tek® (Programm 9) entwässert und per Hand in Paraffin eingebettet. Anschließend wurden sie mit einem Rotationsmikrotom in einer Schichtdicke von 5 µm geschnitten und die Schnitte jeweils auf einen Objektträger übertragen. Zur Beurteilung der Wanddicke und des Gefäßlumens der Gefäße wurden die Schnitte mit Hämatotoxilin Eosin (H.E.) angefärbt.

2.4.2. Protokoll der Hämatotoxilin Eosin- Färbung für Paraffinschnitte

Der jeweilige Schnitt wurde auf einen Objektträger gelegt und nach folgendem Protokoll gefärbt:

1. 10 min in Xylol I
2. 3 min in Xylol II
3. 3 min in 100%igem Alkohol
4. 3 min in 95%igem Alkohol
5. 3 min in 70%igem Alkohol
6. 3 min in 50%igem Alkohol.
7. 2 min in Aqua dest. tauchen
8. 10 min in Hämalan
9. 15 min in Leitungswasser halten
10. kurz in 0,1%iger HCl spülen
11. 5 min in Eosin G wässrig 0,25 % einlegen
12. 1 min in Aqua dest
13. 3 min in 70%igem Alkohol
14. 3 min in 95%igem Alkohol
15. 3 min in 100%igem Alkohol
16. 3 min in Xylol I
17. 3 min in Xylol II
18. Eindecken in Entellan

2.4.3. Auswertung Histologie

Die H.E. gefärbten Schnitte wurden nun unter einem Mikroskop mit einem 5 x und 10 x Trockenobjektiv und einem 10 x Okular nach Gefäßen durchsucht. Aus dem Produkt von Objektivvergrößerung und Okularvergrößerung errechnet sich eine Gesamtvergrößerung von 50- bzw. 100fach.

Es wurden quer geschnittene arterielle und venöse Gefäße aufgesucht. Mit einer angebrachten Kamera am Mikroskop, welche an einem Computer und dazugehörigem Programm AxioVision 4.05 angeschlossen waren, wurden die Gewebsschnitte nach Gefäßen ab einer Größe von ca. $200\ \mu\text{m}^2$ abfotografiert. Diese wurden auf einem Monitor auf ein Dia projiziert. Mithilfe des Computerprogramms Axiovision Version 2.6. zugehörig zur Kamera konnten die Wanddicke und die Fläche ausgemessen werden. Diese wurden bestimmt, um Veränderungen wie Dilatation oder Wandverdickung der Gefäße vergleichend in den unterschiedlichen Bereichen beurteilen zu können. Die Wanddicke wurde an zwei bzw. drei verschiedenen Stellen der Gefäßwand gemessen. Als Wanddicke zählten alle Wandschichten: Intima, Media und Adventitia. Mit einem Cursor wurde manuell die Wanddicke von innen nach außen senkrecht zur Intima markiert und ausgemessen. Aus den zwei bzw. drei verschiedenen Werten wurde der Durchschnitt gebildet für die durchschnittliche Wanddicke.

Die Innenfläche des Gefäßes wurde an der Innenseite der Intima mit dem Cursor eingekreist und mithilfe des Programms die Fläche des Bereichs berechnet. Bei der Fläche des Gefäßes wurde ausschließlich die offene Fläche ohne Gefäßwand gemessen.

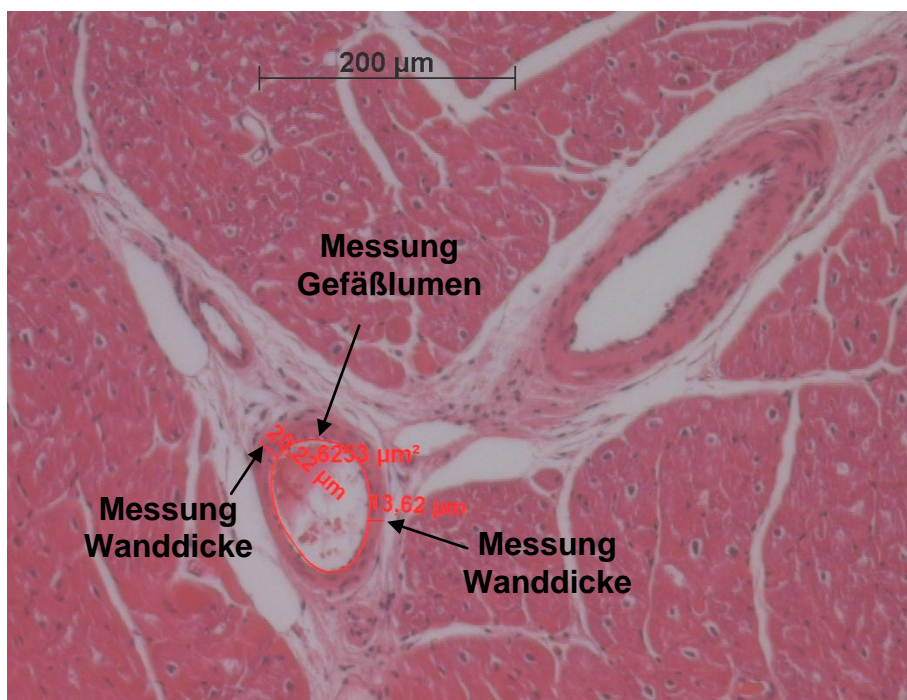


Abbildung 10: Gewebsschnitt aus dem linken Ventrikel, Messung der Fläche des Gefäßlumens und Wanddicke an einer Arterie

2.5. Lyse

Um herauszufinden, wie viele Mikrosphären nach Applikation sich im Gewebe befinden, wurden Gewebstücke aus den Ventrikeln entnommen und lysiert und die übrig gebliebenen Glaskügelchen gemessen.

Dazu wurde je ein Stück Myokardgewebe aus dem linken und rechten Ventrikel von 1cm x 1cm x 1cm Größe herausgeschnitten und abgewogen. Diese wurden jeweils in ein Reagenzglas mit 75 ml 3 molare Natronlauge eingelegt. Dort verblieb das Gewebe ca. 3 Wochen. Durch regelmäßiges Schütteln und nochmaliges Zerschneiden der Gewebstücke mit einem Skalpell konnte der Großteil des Gewebes aufgelöst werden. Der Überstand wurde mit Vorsicht abgekippt, um die abgesetzten Materialien nicht hoch zu wirbeln und sich wieder zu vermischen. Die restliche Flüssigkeit mit Absatz wurde in einen Behälter der Zentrifuge gegeben und dort bei 2000 Umdrehungen pro Minute für 5 Minuten zentrifugiert. Anschließend wurde der Überstand vorsichtig abgegossen. Die restliche Flüssigkeit mit Absatz wurde auf ein Filterpapier, welches im Vorhinein abgewogen wurde, gegeben. Dieses wurde in einen Trockenschrank bei 80 °C gelegt, um die restliche Flüssigkeit zu entfernen. Nach ca. 20-30 Minuten war die Flüssigkeit verdunstet. Das Filterpapier mit den übrig gebliebenen Glaskügelchen wurde abgewogen und von dem Gewicht des Filterpapiers abgezogen. Nun wurde bestimmt wie viel Gramm Glaskügelchen sich pro Gramm Herzgewebe im Herz befanden.

2.6. Statistik

Alle Werte sind als Mittelwerte \pm S.E.M. von n Versuchen dargestellt.

Zur statistischen Analyse mit dem Programm Systat 11 wurde eine Varianzanalyse mit nachfolgendem t-Test, ggf. mit Bonferroni-Korrektur für multiple Vergleiche gerechnet. Bei geringen n-Zahlen, oder falls Varianzgleichheit oder Normalverteilung nicht gegeben waren, wurde für paarweise Vergleiche ein Wilcoxon-Test, für nicht-gepaarte Beobachtungen ein Mann-U-Whitney-Test verwendet. Signifikanz wurde angenommen für $p < 0,05$.

3. Materialien

3.1. Versuche

3.1.1. Minipigs

Die Minipigs stammen aus der Tierversuchsanstalt Düsseldorf. Es handelt sich um Münchner Minischweine. Sie wurden entsprechend des Tierschutzgesetzes gehalten in Ställen der Tierklinik.

3.1.2. Medikamente

- Acetylsalicylsäure: Aspirin®, Bayer Vital GmbH, Leverkusen
- Azaperon: Stresnil™, Janssen-Cilag GmbH, Neuss
- Betaisodonlösung: Braunol®, 7,5%ige Lösung, ratiopharm GmbH, Ulm
- Dobutamin: Dobutamin Liquid Fresenius, Bad Homburg
- Enrofloxacin: Baytril®10%, Bayer Vital GmbH, Leverkusen
- Heparin: Heparin-Natrium-25000-ratiopharm®, ratiopharm GmbH, Ulm
- Infusion Gelafusal: Gel 4 Rac, 4% modifizierte flüssige Gelantin in Ringer Lactat, Serumwerk Bernburg AG, Bernburg
- Isofluran: Isoba®, Essex Tierarznei, Essex Pharma GmbH, München
- Ketaminhydrochlorid: Ursotamin®, Serumwerk Bernburg AG, Bernburg
- Meloxicam: Metacam®, Boehringer Ingelheim Vetmedia GmbH, Ingelheim am Rhein
- Metamizol-Na: Vetalgin®, Intervet Deutschland GmbH, Unterschleißheim
- Pancuroniumbromid: Pancuronium-ratiopharm®, ratiopharm GmbH, Ulm
- T 61®: Tetracainhydrochlorid, Mebezoniumiodid, Embutramid, Intervet Deutschland GmbH, Unterschleißheim
- Thiopental: Trapanal®, Nycomed, Konstanz

während der OP bei Bedarf:

- Amiodaronhydrochlorid: Cordarex®, Sanofi-Aventis Deutschland GmbH, Frankfurt a. M.
- Calciumgluconat: Calciumgluconat10% B.Braun, B. Braun Melsungen AG, Melsungen
- Epinephrinhydrochlorid: Suprarenin®, Aventis Pharma Deutschland GmbH, Frankfurt a. M.
- Fentanyl: Fentanyl-Janssen®, Janssen-Cilag GmbH, Neuss

- Infusion: Polyonique Glucose 5%, MacoPharma International GmbH, Langen
- Inzolen®-Infusion: E Infl.-Fl., (KCl, MgCl₂, CuCl₂, ZnSO₄), Köhler Pharma GmbH, Alsbach
- Lidocainhydrochlorid: Xylocitin®-cor2% 10 ml, Jenapharm GmbH & Co. KG, Jena
- Magnesiumsulfatheptahydrat: Mg10%Inresa™, Inrease Arzneimittel GmbH, Freiburg
- Neomycin: Nebacetin®, Yamanouchi Pharma, Heidelberg
- Orciprenalinsulfat: Alupent®, Boehringer Ingelheim International GmbH, Ingelheim am Rhein

3.1.3. Materialien

- 0,9 %ige Natriumchloridlösung: isotonische Natriumchloridlösung 0,9 %®, Baxter, Unterschleißheim
- EKG Elektroden: EKG Elektroden™, Tyco healthcare, Neustadt a.d. Donau
- Endotrachealer Tubus : 6 oder 7 Ch, LoContour™ Magill, Athlone, Irland
- Fäden für Stenose: Prolene 8-0®, für Anastomose, Verschluss Arterie nach Herzkatetheruntersuchung Prolene 6-0®, Ethicon GmbH, Norderstedt
- Katheterschleuse: 6 French, fast cath®, St. Jude Medical, St. Paul, Minnesota, USA
- Kontaktgel: Elektrodengel, apo-rot®, C+V Pharma Depot GmbH, Versmold
- Kontrastmittel: Imercon®, Altana Pharma, Konstanz
- Ligierung der Vene: Vicryl 2-0®, Ethicon GmbH, Norderstedt
- Mikrosphären: Glass Microspheres (Borosilicate Glass, Soda Lime Glass)
packing lot# 26966 Catalog Number: 9100, Nominal 100µm; Ausstellungsdatum des Zertifikates: 07/07; Duke Scientific Corporation, Fremont, California, USA
- Sprühverband: Aluminiumspray, Veyx-Pharma GmbH, Schwarzenborn
- Titanium-Clips (zum Clippen der A. mammaria): Horizon™, Weck®, KMedic Europe GmbH OEM, Tuttlingen
- Tubus: LoContour™ Magill, Athlone, Irland

3.1.4. Geräte

- Beatmungsgerät: Cato, Typ M33010, Dräger Medical Deutschland GmbH, Lübeck
- Blut-Gas-Analyse-Gerät: radiometer ABL 700 series, Radiometer Copenhagen, Dänemark
- Defibrillator: Lifepak® 20, Medtronic Physio-Control, Düsseldorf

- Echokardiographiegerät: Ving Med 800 A, GE, GOLMED, Medizintechnische Vertriebgesellschaft mbH, Weddel
- EKG- und MAP- Messgerät: Infinity® Delta Monitor DE, Modellnummer: MS 13464 E539D, Dräger Medical Deutschland GmbH, Lübeck
- Elektrokauter: ICC 300, ERBE Elektromedizin GmbH, Tübingen
- Flussmessgerät : Transsonic flow probe ®, Transsonic Systems, New York, NY, USA
- Herzkatheter: Bildschirm: AG neovo, Siemens, München
- Herzkatheter: PC: Fujitsu Siemens, Celsius, München
- Herzkathetergerät: 5,2F, Angiographic Catheter, AL II ®, Cordis, Miami, FL, USA
- Octopus®: Medtronic International Trading Sàrl, Tolochenaz, Schweiz
- Rasierer: Aesculap®, Favorita 11, Braun GmbH, Kronberg/Taunus

3.2. Histologische Aufarbeitung

3.2.1. Materialien

- Aqua dest.
- Deckgläser 24 x 32 mm, Roth®, Karlsruhe
- Entellan, Merck KGaA, Darmstadt
- Eosin G, Merck KGaA, Darmstadt
- Ethanol (95%ig, 70%ig, 50%ig): selbst hergestellt aus Aqua dest. und Ethanol vergällt, Roth®, Karlsruhe
- Ethanol 100%ig: Ethanol vergällt, Roth®, Karlsruhe
- Hämalun sauer nach MAYER, Roth®, Karlsruhe
- Leitungswasser
- Objektträger 25 x 75 x 1 mm, Menzel Gläser, superfrost® plus, Thermo Scientific Menzel GmbH & Co KG, Braunschweig
- Xylol, Roth®, Karlsruhe

3.2.2. Geräte

- Bildschirm: hp p 720, Hewlett-Packard GmbH, Böblingen
- Computerprogramm: AxioVision 4.05, Axio Cam Version 2.6., Zeiss, Jena
- Einbettautomat: Tissue Tek®, V.I.P. Modell E150/E300, Vogel, Gießen
- Kamera: Axio Cam MRc 5, Zeiss, Jena
- Mikroskop: 3200K, SIP 70107, Zeiss, Jena
- Objektiv: Plan-Neofluar, 10x/0.30, 440331, Zeiss, Jena

- Objektiv: Plan-Neofluar, 5x/0.15, 440320, Zeiss, Jena
- Okular: PI 10x/25 Br., 444033, Zeiss, Jena
- PC: hp Vectra VL 420 MT, Hewlett-Packard GmbH, Böblingen
- Schneidegerät: Rotationsmikrotom, Microm HM 400, Thermo Scientific, Thermo Fisher Scientific Inc., Dreieich
- Schneidemesser: Microtome Blade, Stainless Steel, S22, Feather®, Osaka, Japan

3.3. Lyse

3.3.1. Materialien

- Filterpapier: Filter papers, Durchmesser 90 mm, Sartorius AG, Göttingen
- Natronlauge: Natriumhydroxid, Roth®, Karlsruhe
- Reagenzglas 100 ml, Schott Duran®, Schott AG, Mainz

3.3.2. Geräte

- Trockenschrank, Dry-line, DL-53, VWR International GmbH, Darmstadt
- Ultratiefkühlgerät (bis - 86 °C), HERAFreeze, Modellnummer: HFU 486 Plus V14, Heraeus®, Thermo Electron LED GmbH (Kendro), Langenselbold
- Waage, Feinwaage FA 3100-2, Heinrich Faust GmbH, Köln
- Zentrifuge: Biofuge® stratos Reconditioned, Heraeus®, Thermo Electron LED GmbH (Kendro), Langenselbold

3.4. Statistische Datenanalyse

- Systat 11: Systat Inc., Evanstone, IL, USA
- SPSS 15.0 für Windows, Version 15.0.1 (22.11.2006), SPSS Inc., Chicago, IL, USA

4. Ergebnisse

4.1. Allgemeine Charakteristika der Versuchstiere

4.1.1. Vergleich Therapiegruppe und Kontrollgruppe

Nachfolgend sind ausschließlich die Messwerte der Tiere, die in die Auswertung eingeschlossen wurden, angegeben.

	Therapiegruppe	Kontrollgruppe	statistische Signifikanz
Alter (Monate)	11,8 ± 3,0	14,5 ± 4,1	n.s.
Gewicht (kg)	27,3 ± 4,6	22,7 ± 2,3	n.s.
Geschlecht männlich	3	1	
Geschlecht weiblich	3	2	
mittlerer arterieller Blutdruck (mmHg)	69 ± 6	78 ± 6	n.s.
pH-Wert	7,504 ± 0,015	7,318 ± 0,110	n.s.
pCO ₂ (mmHg)	34,9 ± 0,9	41,8 ± 0,3	p = 0,02
pO ₂ (mmHg)	391 ± 21	390 ± 37	n.s.
ctHb (mmol/L)	5,9 ± 0,2	5,5 ± 0,3	n.s.
Hct _c (%)	29,4 ± 0,7	27,6 ± 1,2	n.s.
sO ₂ (%)	100	100	n.s.
FO ₂ Hb (%)	99,6 ± 0,1	99,5 ± 0,1	n.s.
FCOHb (%)	0,2 ± 0,1	0,3 ± 0,1	n.s.
FHHb (%)	0	0	n.s.
FMetHb (%)	0,5 ± 0,1	0,5 ± 0,0	n.s.
cK ⁺ (mmol/L)	3,94 ± 0,20	3,91 ± 0,08	n.s.
cNa ⁺ (mmol/L)	139,7 ± 0,8	142,3 ± 0,2	n.s.
cCa ²⁺ (mmol/L)	1,38 ± 0,02	1,3 ± 0,01	n.s.
cCl ⁻ (mmol/L)	102 ± 0	102 ± 1	n.s.
cGlucose (mmol/L)	6,7 ± 1,1	5,1 ± 0,2	n.s.
cLactat (mmol/L)	3 ± 0,4	1,5 ± 0,1	n.s.
cBase (mmol/L)	4,1 ± 1,1	6,1 ± 1,2	n.s.
cHCO ₃ ⁻ (mmol/L)	28,4 ± 1,0	27,2 ± 1,4	n.s.

Tabelle 2: Biometrische Daten der ausgewerteten Tiere der Therapiegruppe und Kontrollgruppe im Vergleich. Dargestellt sind die Mittelwerte ± S.E.M.

Die angegebenen Parameter wurden aus arteriellem Blut anhand einer Blutgasanalyse zu Beginn des ersten Versuchsteils bestimmt. Bis auf in einem Parameter konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen der Therapiegruppe und der Kontrollgruppe festgestellt werden. Das Signifikanzniveau lag bei $\leq 0,05$.

4.1.2. Komplikationen/Ausfälle

	Therapiegruppe	Kontrollgruppe
Anzahl Tiere	12	12
Tod durch Kammerflimmern	1	5
Tod Herzbeuteltamponade		1
Tod Post-OP	1	2
Stenose RIVA offen Versuchsteil 3		1
Stenose RIVA offen und Bypass nicht durchgängig im Versuchsteil 3	4	
Auswertung	6	3

Tabelle 3: Komplikationen während der Versuche

Im Versuchsverlauf verstarben von 24 Minipigs 10 Tiere. In Tabelle 3 sind die Todesursachen näher bezeichnet und nachfolgend erläutert.

Bei den 10 Tieren, die nicht bis zum Versuchsteil 3 überlebt haben, lagen folgende Todesursachen zugrunde: 7 Tiere verstarben intraoperativ: 6 davon aufgrund an ischämiebedingten Kammerflimmern, 2 bereits nach Injektion der Mikrosphären und 4 nach Anlage der Stenose, welche auch durch Defibrillation nicht wieder in den Sinusrhythmus gebracht werden konnten. Ein Tier überlebte die Herzbeuteltamponade nicht. 3 Tiere sind am 1. Tag post-op verstorben: 2 nach Versuchsteil 1, ein anderes nach Versuchsteil 2.

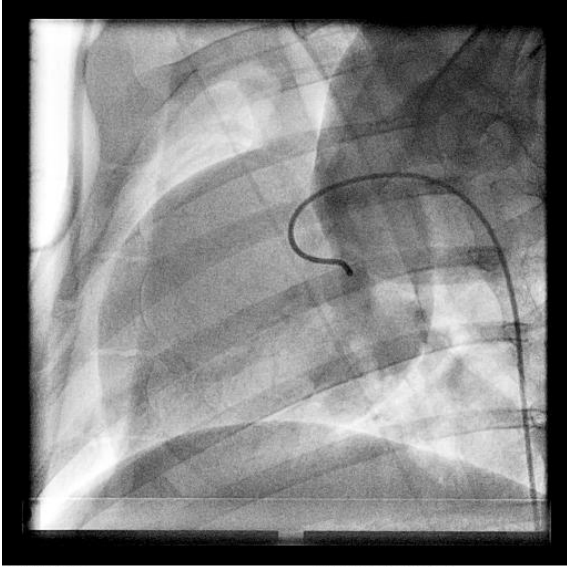
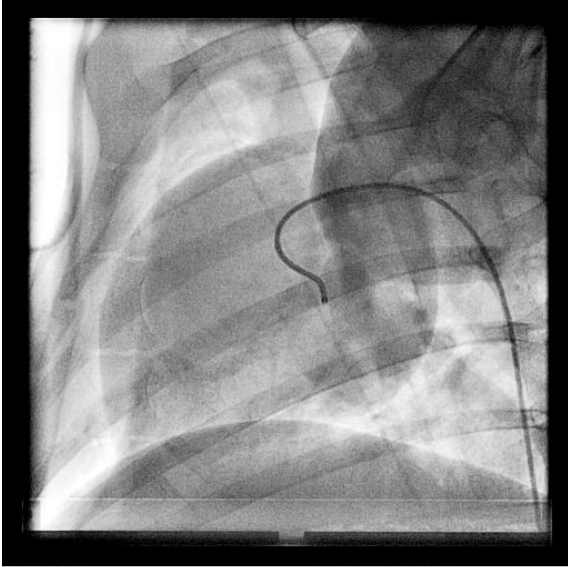
Von den überlebenden 14 Minipigs konnten 9 ausgewertet werden. Bei einem Tier in der Kontrollgruppe konnte im Versuchsteil 3 keine Stenose des RIVA angiographisch gezeigt werden. Bei weiteren 4 Tieren in der Therapiegruppe konnte ebenfalls im Versuchsteil 3 keine Stenose des RIVA mehr nachgewiesen werden bei gleichzeitig verschlossenem Bypass.

4.2. Funktionelle Ergebnisse

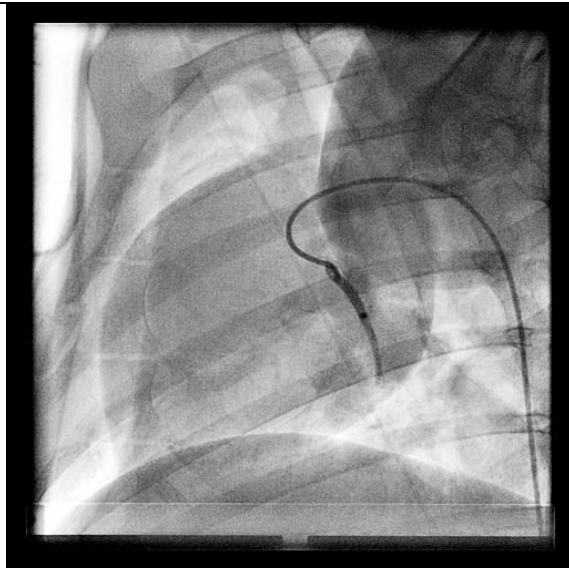
4.2.1. Auswertung Mikroangiopathie

4.2.1.1. Herzkatheteruntersuchung

Im Folgenden sind Ausschnitte aus zwei Herzkatheteruntersuchungen zu sehen. Auf der linken Seite sind die Bilder der Herzkatheteruntersuchung vor der Injektion der Mikrosphären zu sehen und auf der rechten Seite die Bilder unmittelbar nach der Injektion. Die nebeneinander stehenden Bilder sind jeweils zum gleichen Zeitpunkt der Herzkatheteruntersuchung mit einer Sequenz von 30 Bildern pro Sekunde gemacht worden.

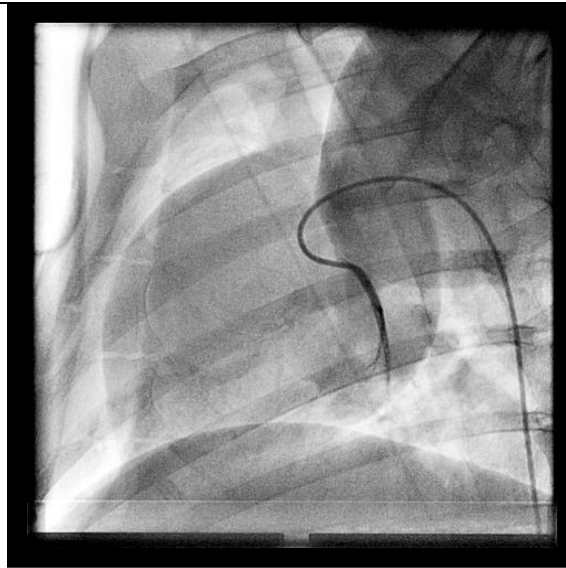
vor Injektion der Mikrosphären	unmittelbar nach Injektion der Mikrosphären
Zeitpunkt 0	
 <p data-bbox="209 1469 778 1559"> Nr 65,Emma Herzzentrum Leipzig FuL 65 28.06.2004 Coronary*Diagnostic Coronary CatheterizatiBild: 15 </p> <p data-bbox="523 1469 778 1559"> [kein Szenenname] 07.02.2006 09:13:57 LAO: 21. CAUD: 1.9 [Ebene A] Szene: 4 </p>	 <p data-bbox="820 1469 1390 1559"> Nr 65,Emma Herzzentrum Leipzig FuL 65 28.06.2004 Coronary*Diagnostic Coronary CatheterizatiBild: 11 </p> <p data-bbox="1134 1469 1390 1559"> [kein Szenenname] 07.02.2006 09:13:57 LAO: 21. CAUD: 1.9 [Ebene A] Szene: 5 </p>

nach 0,17 Sekunden



Nr 65,Emma
Herzzentrum Leipzig FuL
65
28.06.2004
Coronary*Diagnostic Coronary CatheterizatiBild: 20

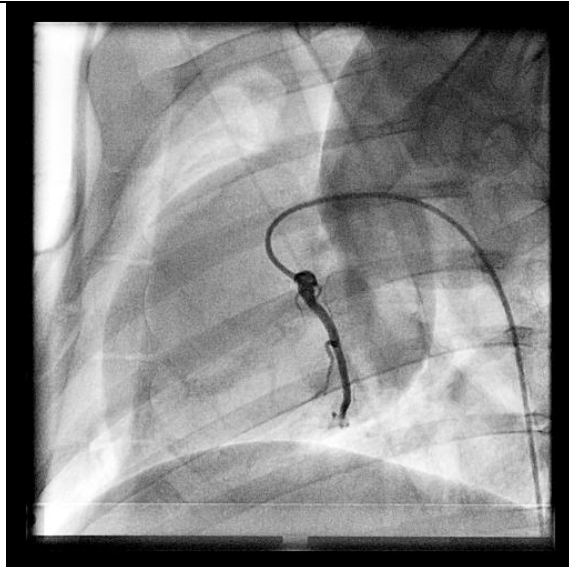
[kein Szenenname]
07.02.2006 09:13:57
LAO: 21. CAUD: 1.9 [Ebene A]
Szene: 4



Nr 65,Emma
Herzzentrum Leipzig FuL
65
28.06.2004
Coronary*Diagnostic Coronary CatheterizatiBild: 7

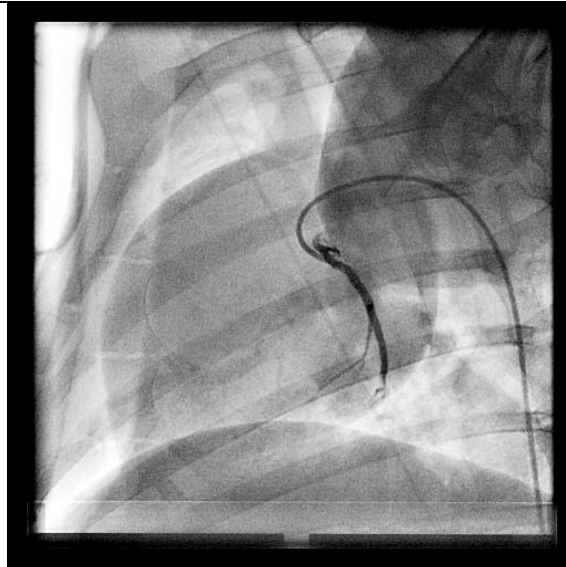
[kein Szenenname]
07.02.2006 09:13:57
LAO: 21. CAUD: 1.9 [Ebene A]
Szene: 5

nach 0,34 Sekunden



Nr 65,Emma
Herzzentrum Leipzig FuL
65
28.06.2004
Coronary*Diagnostic Coronary CatheterizatiBild: 25

[kein Szenenname]
07.02.2006 09:13:57
LAO: 21. CAUD: 1.9 [Ebene A]
Szene: 4



Nr 65,Emma
Herzzentrum Leipzig FuL
65
28.06.2004
Coronary*Diagnostic Coronary CatheterizatiBild: 21

[kein Szenenname]
07.02.2006 09:13:57
LAO: 21. CAUD: 1.9 [Ebene A]
Szene: 5

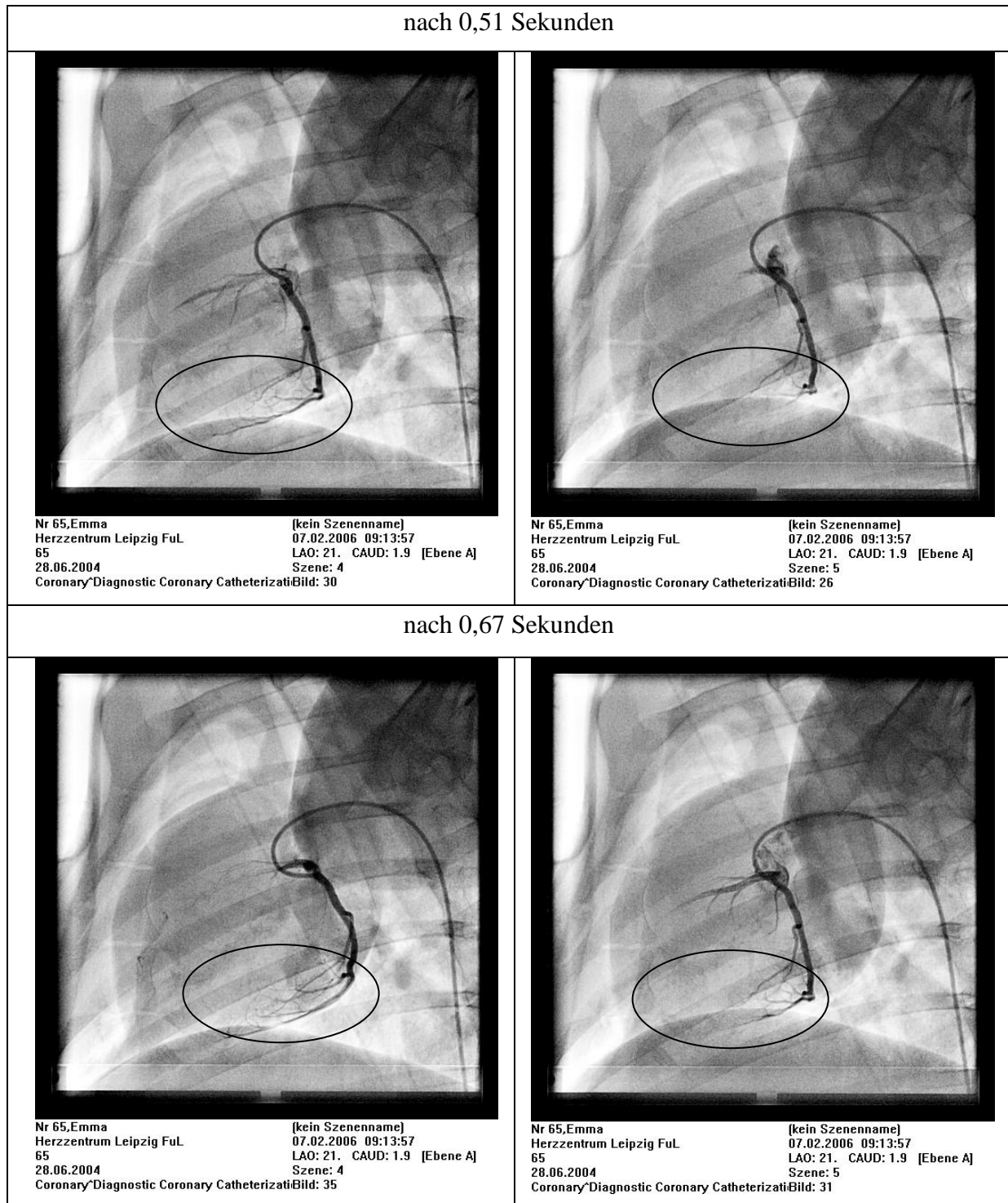


Abbildung 11: Ausschnitte aus den Herzkatheteruntersuchungen im Verlauf vergleichend vor und nach Injektion der Mikrosphären. Oval markiert die Anflutung des Kontrastmittels in der Peripherie der linken Koronararterie.

Zunächst flutet das Kontrastmittel in der Koronararterie vor der Injektion der Mikrosphären im gleichen Maße und Geschwindigkeit an wie nach der Injektion. In den letzten zwei Zeitabschnitten ist in den Bildern nach Injektion der Mikrosphären eine fehlende Verästelung in der Peripherie der linken Koronararterie zu erkennen, welches auf eine verspätete Anflutung des Kontrastmittels schließen lässt.

4.2.1.2. Funktionelle Befunde

Die Veränderung der Ejektionsfraktion vom Zeitpunkt vor der Injektion der Mikrosphären bis zum Zeitpunkt 7 Wochen nach der Injektion ist im folgenden Diagramm abgebildet.

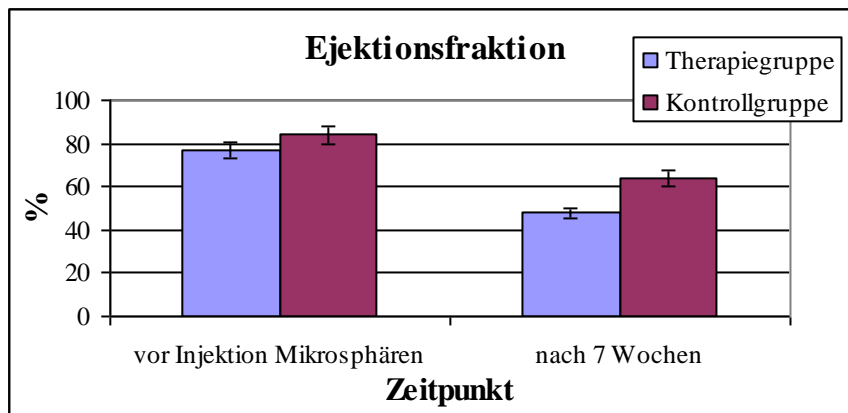


Abbildung 12: Ejektionsfraktion vor der Injektion von Mikrosphären und nach 7 Wochen. Dargestellt sind die Mittelwerte \pm S.E.M.

Es war deutlich zu erkennen, dass die Ejektionsfraktion in beiden Gruppen 7 Wochen nach der Injektion der Mikrosphären abgenommen hat.

4.2.1.3. Ergebnisse Lyse

Um herauszufinden, wie viele von den 8000 in den Hauptstamm injizierten Mikrosphären sich im Gewebe festgesetzt haben, wurde je ein Stück Myokard aus dem linken und rechten Ventrikel lysiert und das Gewicht der Glaskügelchen bestimmt (2.5.).

Das Gewicht der entnommenen Gewebsstücke lag zwischen 1,82g und 2,96g im Durchschnitt bei $2,506 \text{ g} \pm 0,184 \text{ g}$.

Das Gewicht der Mikrosphären im linken und rechten Ventrikel war unterschiedlich groß. Im linken Ventrikel wurden 0,01 g gemessen und im rechten Ventrikel $0,043 \text{ g} \pm 0,004 \text{ g}$. Damit ergab sich, dass sich im linken Ventrikel $4,65 \text{ mg} \pm 0,60 \text{ mg}$ Mikrosphären pro Gramm Gewebe befanden, welches ca. 60 Mikrosphären pro Gramm Gewebe entspricht. Im rechten Ventrikel wurden $16,29 \text{ mg} \pm 1,84 \text{ mg}$ Mikrosphären pro Gramm Gewebe bestimmt. Dies entspricht ca. 195 Mikrosphären pro Gramm Gewebe.

Da sich die Mikrosphären proportional zur Durchblutung in die Kapillaren festsetzen, war zu erkennen, dass die Durchblutung im rechten und linken Ventrikel unterschiedlich hoch war.

4.2.2. Echokardiographie - Ejektionsfraktion

Bei beiden Gruppen wurde die Ejektionsfraktion zu allen 3 Versuchsteilen gemessen.

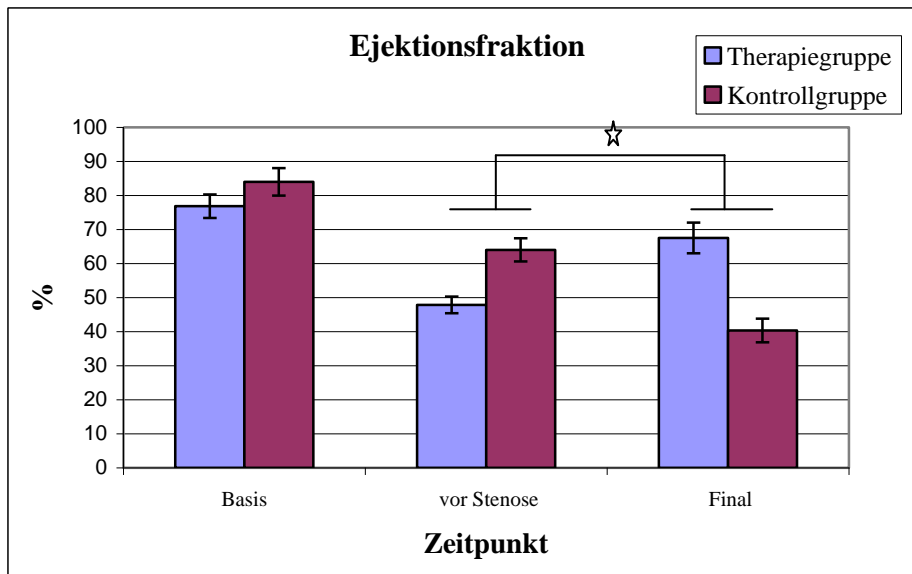


Abbildung 13: Ejektionsfraktion zu allen Versuchsteilen im Vergleich zwischen den beiden Gruppen. Dargestellt sind die Mittelwerte \pm S.E.M. (exakte Werte siehe Tabelle 4 im Anhang)

☆ : $p = 0,005$, statistische Signifikanz bei einem Signifikanzniveau von $p < 0,05$

Zu Beginn lagen die Werte der Ejektionsfraktion beider Gruppen nah beieinander. Im Versuchsteil 1 vor der Injektion der Mikrosphären wurde in der Therapiegruppe eine Ejektionsfraktion von $76,83 \pm 3,45$ % bestimmt und in der Kontrollgruppe von $84 \pm 4,03$ %. Nach 7 Wochen im Versuchsteil 2 vor Anlage der Stenose waren die Werte auf $47,83 \pm 2,44$ % in der Therapiegruppe und auf $64 \pm 3,4$ % in der Kontrollgruppe gesunken. Nachdem in der Therapiegruppe nach der Anlage der Stenose ein Bypass angelegt wurde, war die Ejektionsfraktion dieser Gruppe zum Versuchsteil 3 auf $67,5 \pm 4,05$ % gestiegen und näherte sich damit dem Ausgangswert von $76,83 \pm 3,45$ % wieder an. Das entspricht $88,24 \pm 0,06\%$ vom Basiswert der Ejektionsfraktion der Therapiegruppe zu Beginn der Versuchsreihe. In der Kontrollgruppe hingegen, die ohne Therapie nach der Anlage der Stenose blieb, fiel die Ejektionsfraktion bis zum Versuchsteil 3 nach 17 Wochen weiter ab auf $40,33 \pm 3,47$ %. Mit einer Signifikanz von $p = 0,005$ war die Therapie des Bypasses (Therapiegruppe) der Gruppe ohne Therapie (Kontrollgruppe) überlegen.

4.2.3. Herzkatheteruntersuchung - Auswertung Makroangiopathie

Ausgewertet wurde der Grad der Stenose des RIVA. Bei den ausgewerteten Tieren wurde ein Durchschnitt des Stenosegrades von $84,6 \pm 4,3\%$ bestimmt.

Diese Untersuchung wurde qualitativ ausgewertet.

MW \pm S.E.M.	Therapiegruppe	Kontrollgruppe
Stenosegrad in %	$90,2 \pm 3,7$	$74,3 \pm 6,3$

4.2.4. Ultraschallflussmessung

Der Blutfluss in der Arteria mammaria proximal der Anastomose lag im Durchschnitt bei $13,75 \pm 4,32$ ml/min. Es wurden ein Maximalwert von 27 ml/min und ein Minimalwert von 3 ml/min gemessen.

4.2.5. Enzymbestimmung

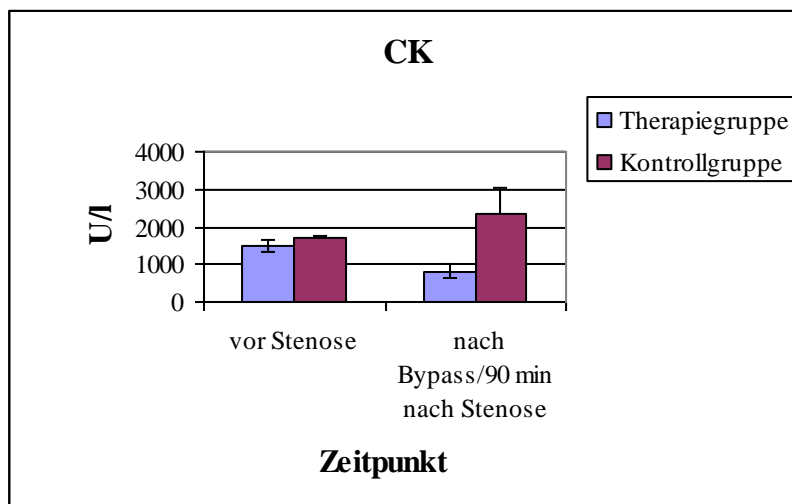


Abbildung 14: Konzentration des Enzyms CK jeweils vor und 90 min nach Anlage der Stenose. Dargestellt sind die Mittelwerte \pm S.E.M. (exakte Werte siehe Tabelle 5 im Anhang)

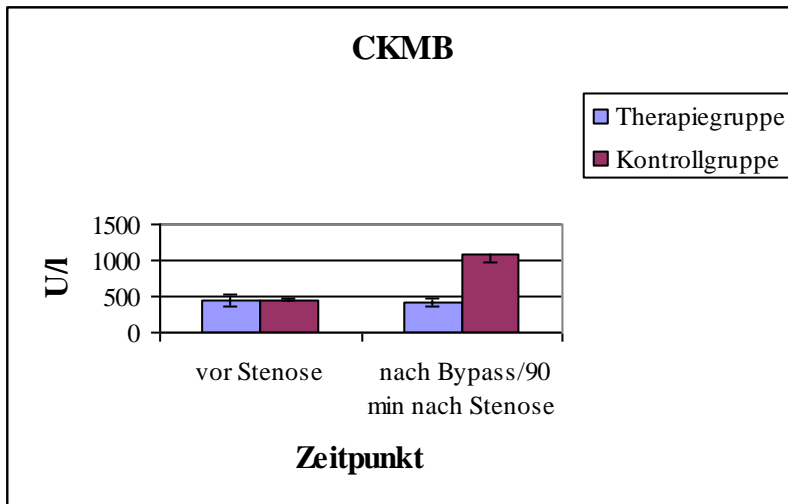


Abbildung 15: Konzentration des Enzyms CKMB jeweils vor und 90 min nach Anlage der Stenose. Dargestellt sind die Mittelwerte \pm S.E.M. (exakte Werte siehe Tabelle 6 im Anhang)

Da für Minipigs keine Normwerte von den Enzymen CK und CKMB existieren, wurden die Werte vor und 90 min nach Anlage der Stenose (Kontrollgruppe) bzw. nach Anlage des Bypasses (Therapiegruppe) lediglich miteinander verglichen. Es war zu erkennen, dass in der Kontrollgruppe die Konzentrationen von CK als auch von CKMB bereits 90 Minuten nach Anlage der Stenose zunahmen und deutlich über die Ausgangswerte vor der Anlage der Stenose stiegen. In der Therapiegruppe blieb die Konzentration der CKMB annähernd gleich und die Konzentration der CK sank.

4.2.6. Elektrokardiographie und hämodynamische Parameter

4.2.6.1. Elektrokardiographie – ST-Veränderungen

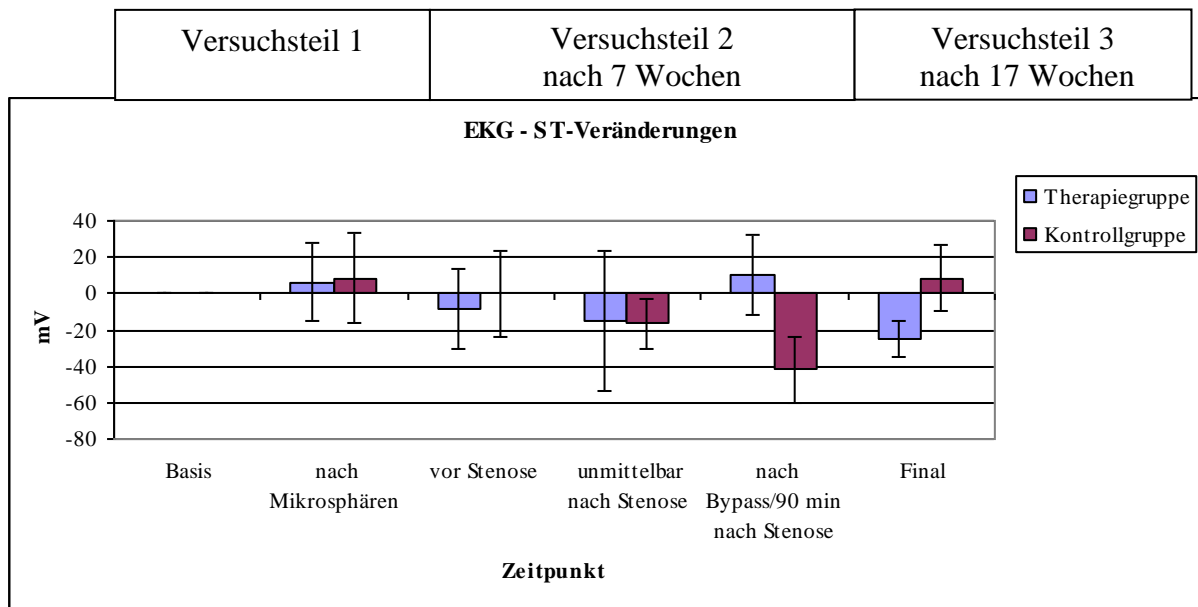


Abbildung 16: ST-Veränderungen im EKG zu bestimmten Zeitpunkten im Vergleich der beiden Gruppen. Dargestellt sind die Mittelwerte \pm S.E.M. (exakte Werte siehe Tabelle 7 im Anhang)

Bei der Beurteilung der ST-Veränderungen wurden sowohl ST-Hebungen als auch ST-Senkungen mit einbezogen. Es war zu erkennen, dass bereits nach Induzieren der Mikroangiopathie ST-Veränderungen auftraten, vor allem ST-Hebungen. Nach Hervorrufen der Stenose handelte es sich hauptsächlich um ST-Senkungen. Nach Anlage des Bypasses zeigten sich in der Therapiegruppe erneut ST-Hebungen. In der Kontrollgruppe konnten zu diesem Zeitpunkt 90 Minuten nach Stenose noch stärkere ST-Senkungen festgestellt werden im Vergleich zum Zeitpunkt unmittelbar nach der Stenose. Im Versuchsteil 3 lagen in der Therapiegruppe vor allem ST-Senkungen und in der Kontrollgruppe geringe ST-Hebungen vor. Diese Veränderungen der ST-Strecke waren Tendenzen und konnten nicht durch eine statistische Signifikanz unterstützt werden.

4.2.6.2. Herzfrequenz

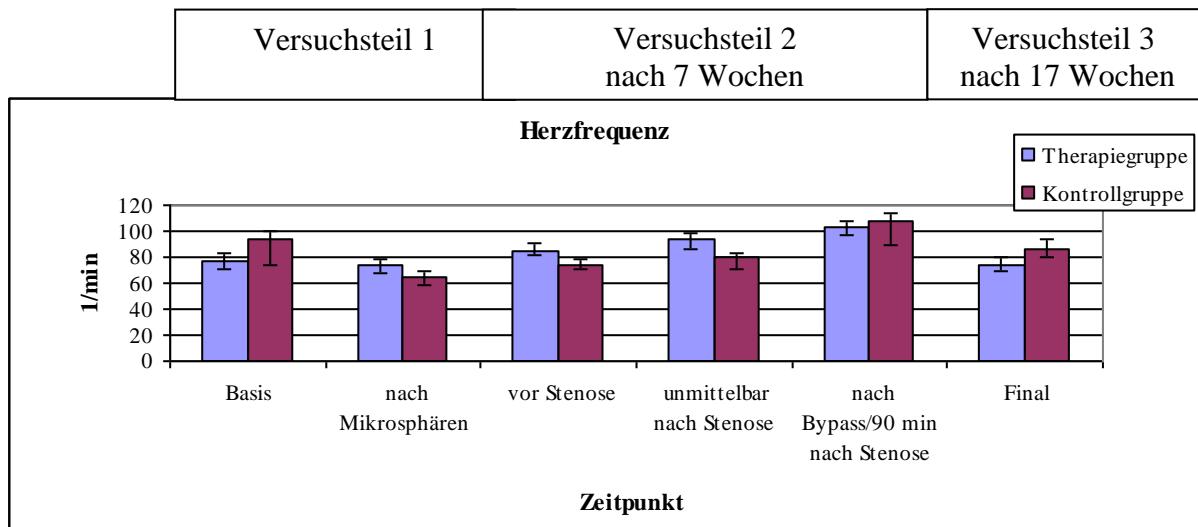


Abbildung 17: Herzfrequenz zu bestimmten Zeitpunkten im Vergleich der Gruppen. Dargestellt sind Mittelwerte \pm S.E.M. (exakte Werte siehe Tabelle 8 im Anhang)

Im Verlauf der Versuchsreihe war zu erkennen, dass zunächst die Herzfrequenz beider Gruppen zwischen 76 ± 7 /min und 94 ± 20 /min lag, nach Injektion der Mikrosphären sank sie, wobei die Herzfrequenz in der Kontrollgruppe niedriger war als in der Therapiegruppe. Nach 7 Wochen lagen die Werte beider Gruppen höher als zum vorherigen Zeitpunkt. Nach Anlage der Stenose nahm die Herzfrequenz beider Gruppen zu und stieg weiter nach Anlage des Bypasses bzw. dem gleichen Zeitpunkt (90 min nach Anlage der Stenose) für die Kontrollgruppe an, deren Herzfrequenz sich nun über der der Therapiegruppe befand. Im Versuchsteil 3 wurde eine durchschnittliche Herzfrequenz von $74,5 \pm 5,8$ /min in der Therapiegruppe und in der Kontrollgruppe von $86,7 \pm 7,2$ /min bestimmt. Somit verringerte sich die Herzfrequenz beider Gruppen im Versuchsverlauf geringfügig. Dabei handelte es sich auch hier ausschließlich um Tendenzen.

4.2.6.3. Mittlerer arterieller Blutdruck

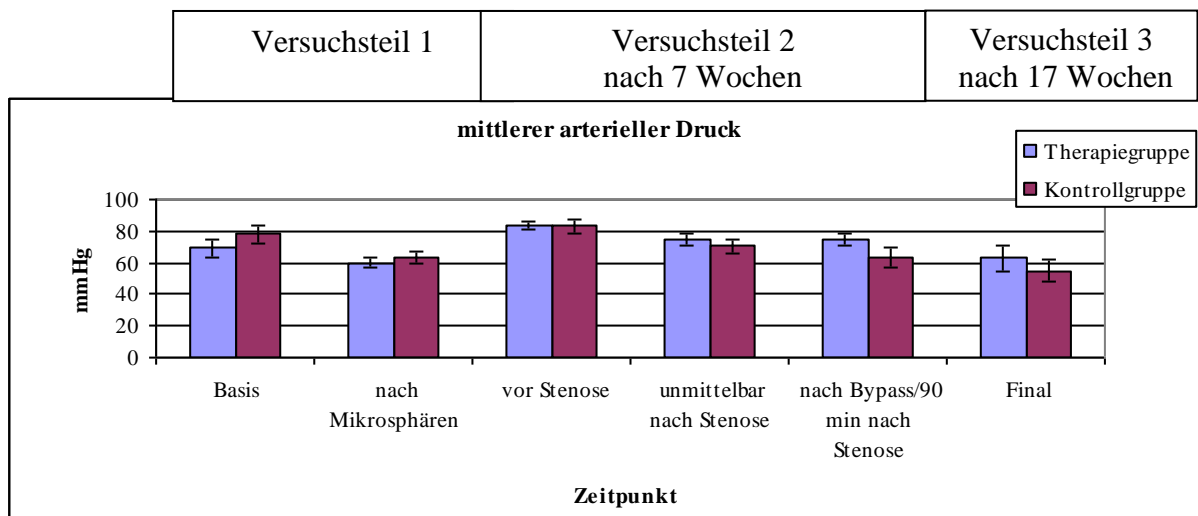


Abbildung 18: Mittlerer arterieller Druck zu bestimmten Zeitpunkten der Versuchsreihe im Vergleich der beiden Gruppen. Dargestellt sind die Mittelwerte \pm S.E.M. (exakte Werte siehe Tabelle 9 im Anhang)

Der mittlere arterielle Druck (MAP) zeigte sich zu Beginn in der Therapiegruppe bei $69 \pm 6,1$ mmHg, in der Kontrollgruppe bei $78 \pm 6,1$ mmHg. Sowohl nach Injektion der Mikrosphären als auch nach Anlage der Stenose nahm der mittlere arterielle Blutdruck ab. Zum Zeitpunkt der Anlage des Bypasses blieb der mittlere arterielle Blutdruck auf einem ähnlichen Niveau wie unmittelbar nach Anlage der Stenose. Vergleichend dazu ist der MAP in der Kontrollgruppe 90 Minuten nach Anlage der Stenose weiter gesunken. Bis zum Versuchsteil 3 verringerten sich die Werte beider Gruppen, bei der Kontrollgruppe auf $55 \pm 6,8$ mmHg und bei der Therapiegruppe auf $62,7 \pm 7,6$ mmHg.

4.2.6.4. Systolischer und diastolischer Blutdruck

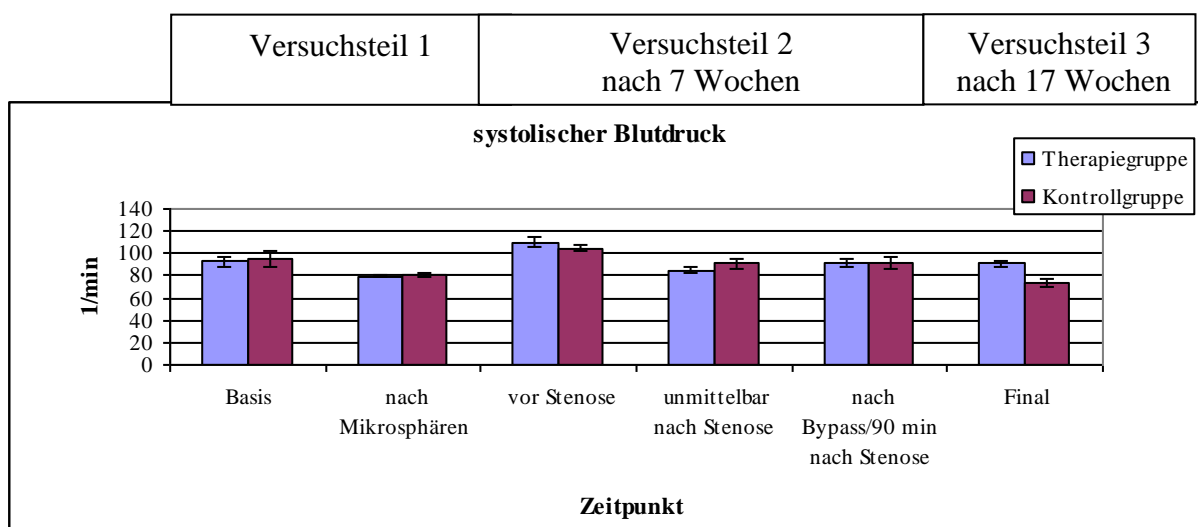


Abbildung 19: Systolischer Blutdruck zu bestimmten Zeitpunkten im Vergleich der Gruppen. Dargestellt sind Mittelwerte \pm S.E.M. (exakte Werte siehe Tabelle 10 im Anhang)

Der systolische Blutdruck lag zu Beginn bei $92,7 \pm 4,5$ mmHg in der Therapiegruppe und bei $94,7 \pm 7,2$ mmHg in der Kontrollgruppe. Nach Eingriffen wie die Injektion der Mikrosphären oder Anlage der Stenose fiel der systolische Blutdruck leicht ab. In der Therapiegruppe erholte sich der systolische Blutdruck auf einen Wert von $90,7 \pm 3,5$ mmHg im Versuchsteil 3 und sank in der Kontrollgruppe auf $74,3 \pm 3,5$ mmHg.

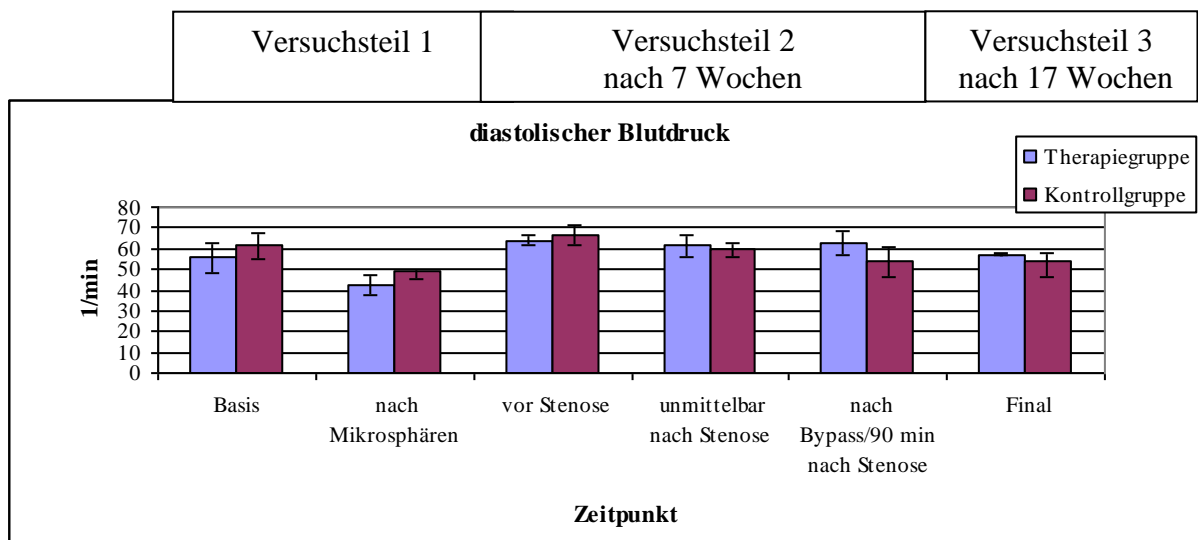


Abbildung 20: Diastolischer Blutdruck zu bestimmten Zeitpunkten im Vergleich der Gruppen. Dargestellt sind Mittelwerte \pm S.E.M. (exakte Werte siehe Tabelle 11 im Anhang)

Bei der Beurteilung des diastolischen Blutdrucks waren ebenfalls Schwankungen im Versuchsverlauf zu erkennen. Der Ausgangswert lag bei $55,7 \pm 7,3$ mmHg in der Therapiegruppe und bei $61,3 \pm 6,6$ mmHg in der Kontrollgruppe. Nach Injektion der Mikrosphären fielen die Werte beider Gruppen ab. Nach 7 Wochen vor Anlage der Stenose stieg der diastolische Blutdruck über dessen Ausgangswerte und sank in beiden Gruppen im weiteren Verlauf des Experiments. Im Versuchsteil 3 betrug der diastolische Blutdruck der Therapiegruppe $57 \pm 0,5$ mmHg und in der Kontrollgruppe $53,7 \pm 3,8$ mmHg.

4.3. Histologische Ergebnisse

Es wurden die Wanddicke und die Fläche des Gefäßlumens von arteriellen und venösen Gefäßen in den Bereichen des rechten und linken Ventrikels, des Septums und der Anastomose untersucht.

4.3.1. Vergleich Gefäße in verschiedenen Bereichen des Herzens

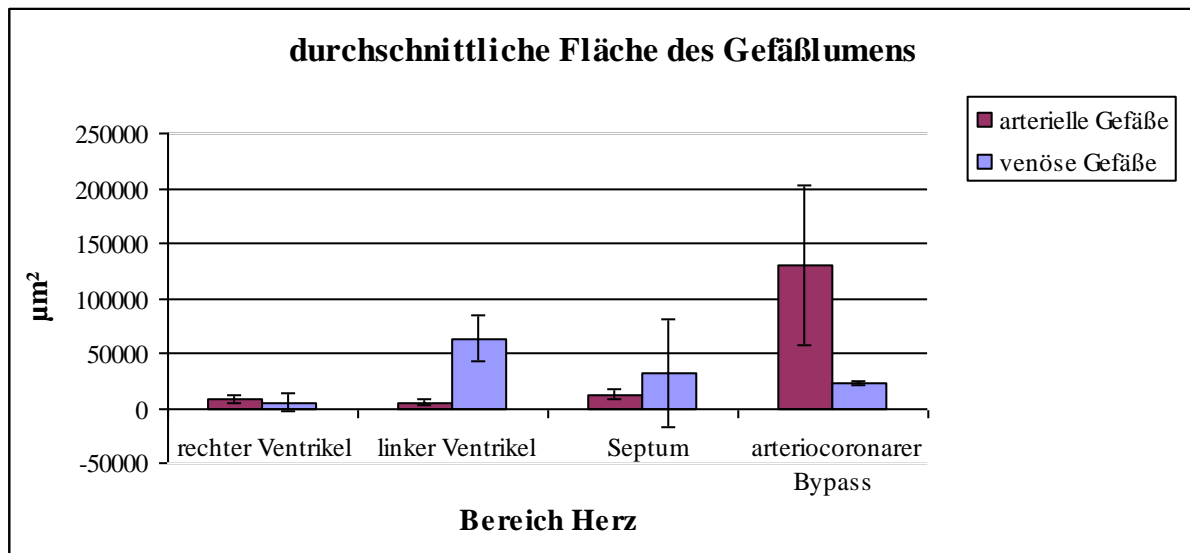


Abbildung 21: Durchschnittliche Fläche des Gefäßlumens im Vergleich arterieller und venöser Gefäße in unterschiedlichen Bereichen des Herzens. Dargestellt sind die Mittelwerte \pm S.E.M. (exakte Werte siehe Tabelle 12 im Anhang)

Im linken Ventrikel und Septum besaßen die venösen Gefäße eine größere Fläche des Gefäßlumens als die Arterien. Im Bereich des arteriocroronaren Bypasses wiesen die Gefäßlumina der Arterien größerer Flächen auf als die der Venen. Außerdem besaßen die aufgefundenen Venen im Bereich des arteriocroronaren Bypasses eine kleinere durchschnittliche Fläche des Gefäßlumens als die Venen, die im linken Ventrikel und Septum beurteilt wurden.

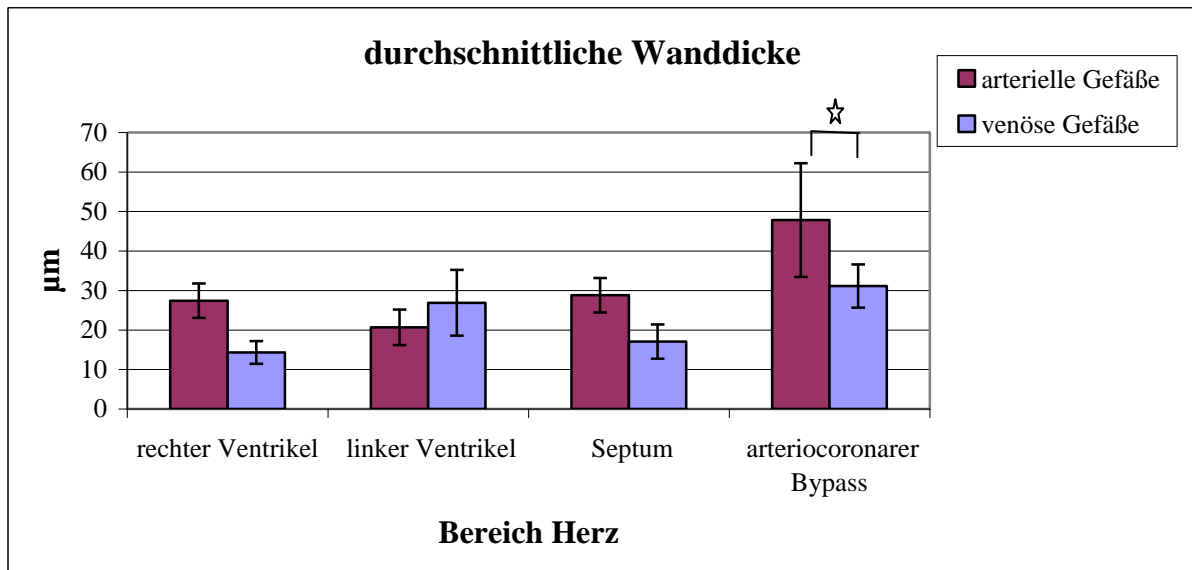


Abbildung 22: Durchschnittliche Wanddicke im Vergleich arterieller und venöser Gefäße in unterschiedlichen Bereichen des Herzens. Dargestellt sind die Mittelwerte \pm S.E.M. (exakte Werte siehe Tabelle 13 im Anhang)

☆ statistische Signifikanz bei einem Signifikanzniveau von $p < 0,05$

Die durchschnittliche Wanddicke der Arterien war im rechten Ventrikel, im Septum und im Bereich der Anastomose größer als die der Venen. Weiterhin erkennbar war, dass sowohl die Arterien als auch die Venen im Bereich des arteriocroronaren Bypasses gegenüber den Gefäßen der anderen Bereiche eine dickere Wandschicht aufwiesen.

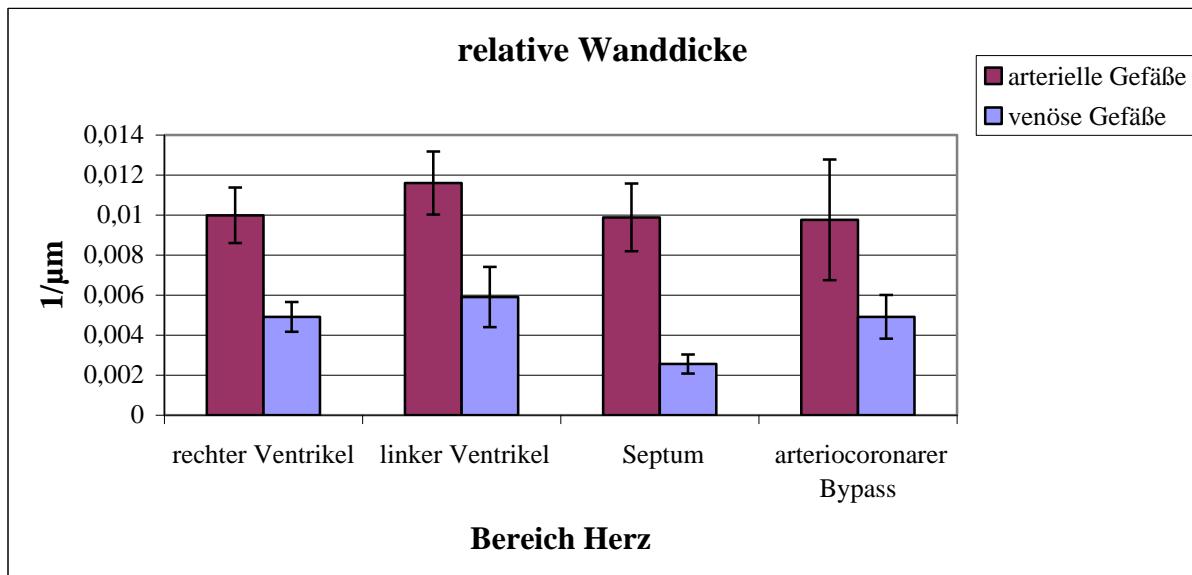


Abbildung 23: Relative Wanddicke im Vergleich arterieller und venöser Gefäße in unterschiedlichen Bereichen des Herzens. Dargestellt sind die Mittelwerte \pm S.E.M. (exakte Werte siehe Tabelle 14 im Anhang)

Das Verhältnis der durchschnittlichen Wanddicke zur durchschnittlichen Fläche des Gefäßlumens wurde in der relativen Wanddicke ausgedrückt. Hierbei wurde deutlich, dass die

relative Wanddicke der arteriellen Gefäße in allen Bereichen des Herzens über der der venösen Gefäße lag.

Die Abweichungen der Gefäße im Bereich des arteri coronaren Bypasses (ACB) von denen der anderen Bereiche im Merkmal Wanddicke und Fläche des Gefäßlumens ließen sich darauf zurückführen, dass hier neben den Arterien und Venen eine dritte Population von Gefäßen gefunden wurde. Diese Gefäße weichen morphologisch von den typischen Gefäßen (Arterien, Venen) ab. Dieser Gefäßtyp wurde im nächsten Schritt der Analyse als nicht klassifizierter Gefäßtyp bezeichnet und ausschließlich im ACB-Bereich gefunden.

In den vorangegangenen Abbildungen waren diese Gefäße im Bereich ACB mit den normalen Gefäßen angegeben.

Nachfolgend soll der nicht klassifizierte Gefäßtyp näher erläutert werden.

4.3.2. Nicht klassifizierter Gefäßtyp

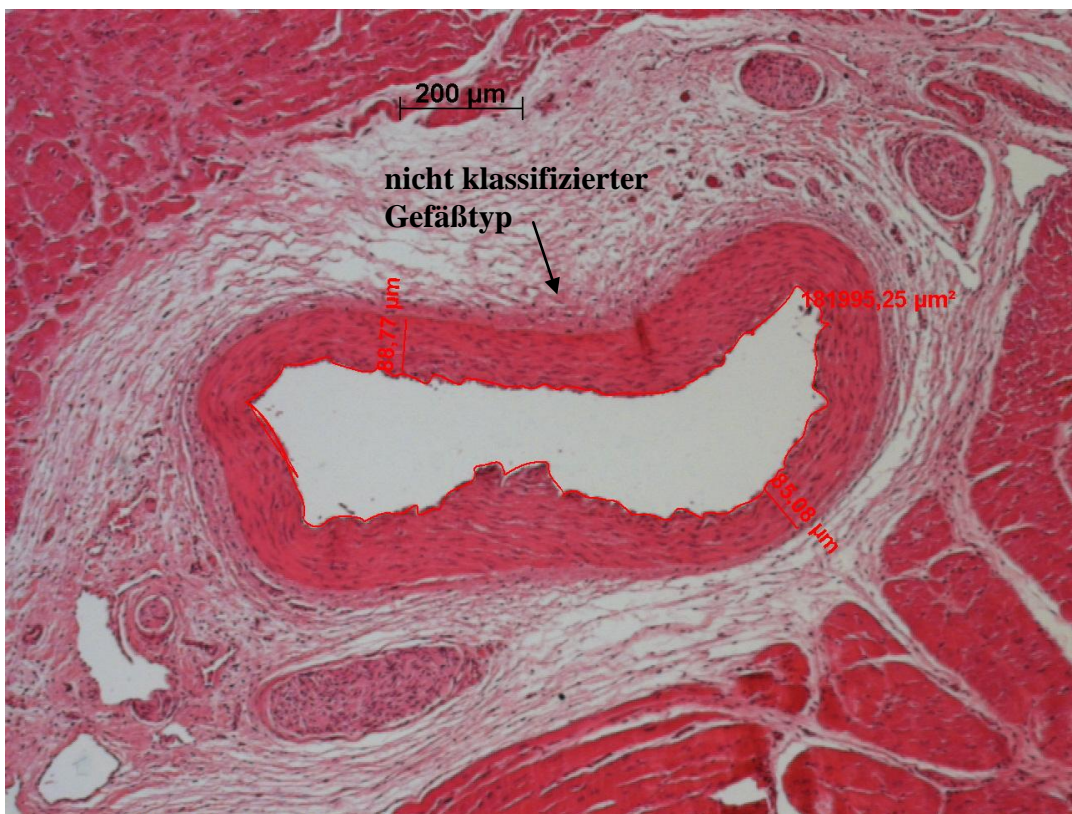


Abbildung 24: Gefäß mit großem Gefäßlumen und verhältnismäßig dicker Wandschicht

Die Fläche des Gefäßlumens entspricht der einer Vene und die Wanddicke entspricht der einer Arterie.

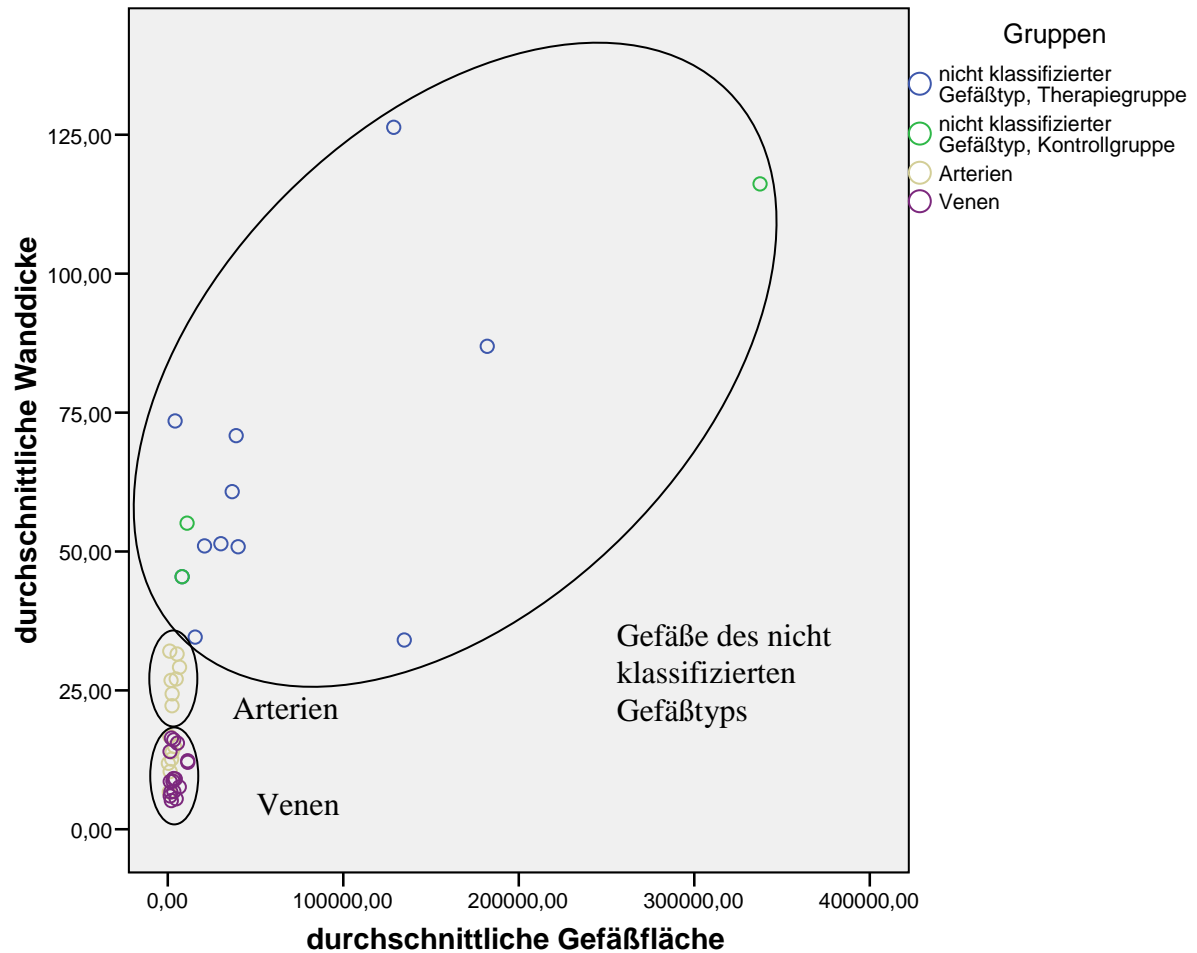


Abbildung 25: Streudiagramm, das die unterschiedlichen Gefäßtypen beider Gruppen in Abhängigkeit zur durchschnittlichen Wanddicke und durchschnittlichen Gefäßfläche zeigt. Alle einbezogenen Gefäße dieser Abbildung stammen aus dem Bereich des arteri coronaren Bypasses.

Das Diagramm demonstriert, dass die Werte der durchschnittlichen Gefäßfläche und Wanddicke außerhalb des Bereiches der Werte für Arterien und Venen liegen und dazu eine sehr große Variabilität aufweisen.

Im Folgenden wurden aus dem ACB-Bereich die Arterien, Venen und der nicht klassifizierte Gefäßtyp in den verschiedenen Merkmalen verglichen.

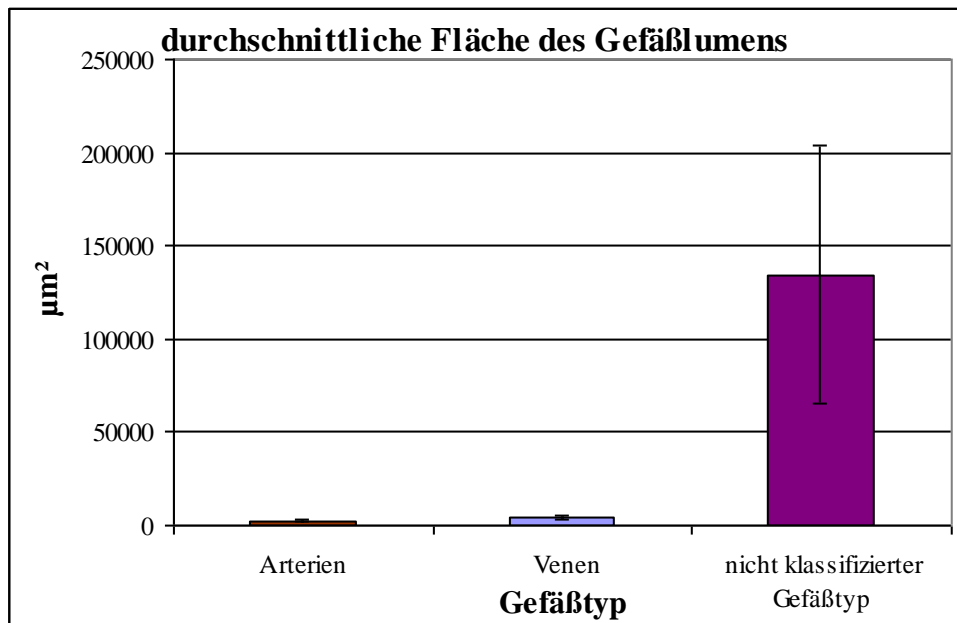


Abbildung 26: Durchschnittliche Fläche des Gefäßlumens der unterschiedlichen Gefäßtypen ausschließlich aus dem Bereich des arteriocroronaren Bypasses. Dargestellt sind die Mittelwerte \pm S.E.M. (exakte Werte siehe Tabelle 15 im Anhang)

Es zeigte sich, dass die durchschnittliche Fläche des nicht klassifizierten Gefäßtyps deutlich größer war als die durchschnittliche Fläche der Arterien und Venen in diesem Bereich.

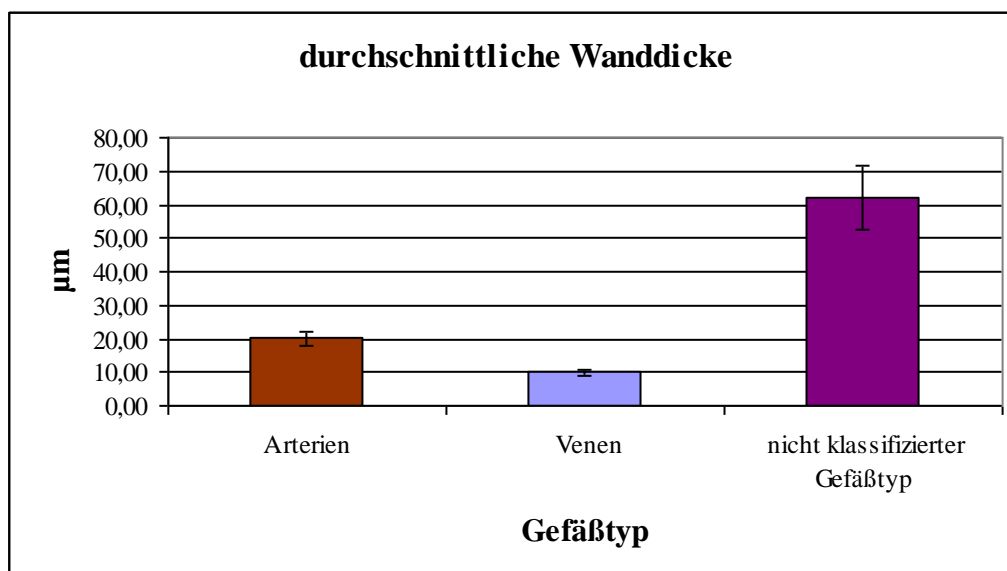


Abbildung 27: Durchschnittliche Wanddicke der verschiedenen Gefäßtypen ausschließlich aus dem Bereich des arteriocroronaren Bypasses. Dargestellt sind die Mittelwerte \pm S.E.M. (exakte Werte siehe Tabelle 15 im Anhang)

Der nicht klassifizierte Gefäßtyp besaß eine deutlich dickere durchschnittliche Wandschicht als die Arterien und Venen. Die Wanddicke von Arterien war größer als die der Venen.

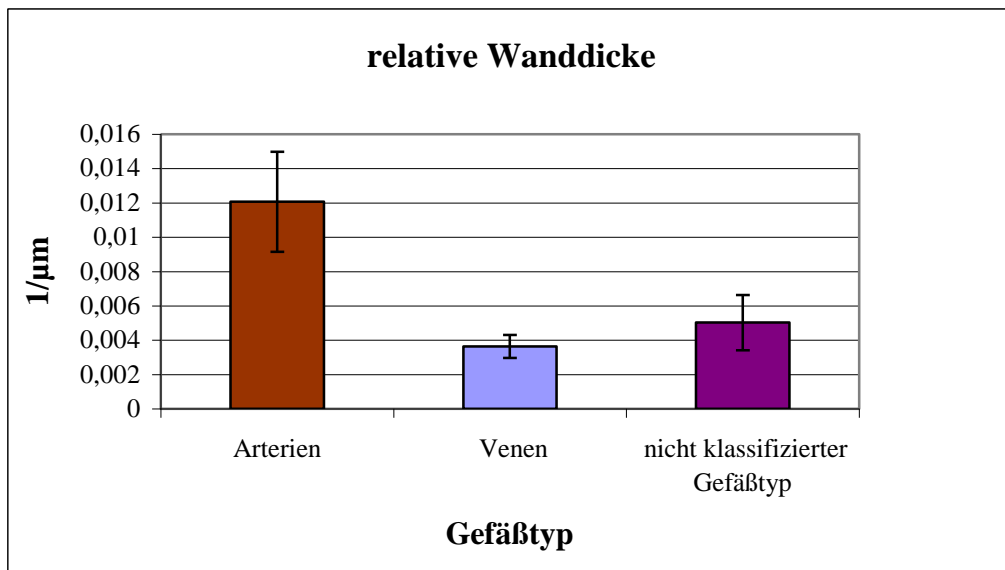


Abbildung 28: Relative Wanddicke der verschiedenen Gefäßtypen ausschließlich aus dem Bereich des arteri coronaren Bypasses. Dargestellt sind die Mittelwerte \pm S.E.M. (exakte Werte siehe Tabelle 15 im Anhang)

Die relative Wanddicke des nicht klassifizierten Gefäßtyps lag zwischen der der Arterien und der Venen. Damit zeigte sich die Unzuordnungsbarkeit dieses Gefäßtyps in die klassischen zwei Typen.

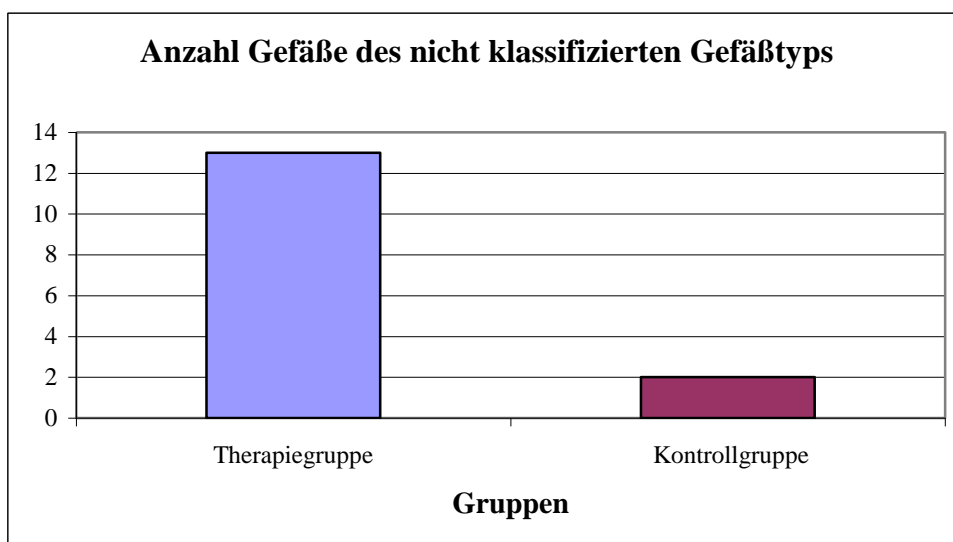


Abbildung 29: Anzahl der Gefäße des nicht klassifizierten Gefäßtyps im Vergleich beider Gruppen ausschließlich aus dem Bereich des arteri coronaren Bypasses

In der Therapiegruppe wurden deutlich mehr Gefäße des nicht klassifizierten Gefäßtyps gefunden als in der Kontrollgruppe.

Im Durchschnitt konnte pro mikroskopierte $0,857 \pm 0,294 \text{ cm}^2$ Gewebsfläche auf dem Objektträger ein Gefäß in der Therapiegruppe gefunden werden.

In der Kontrollgruppe wurde ein Gefäß pro mikroskopierte $0,9 \pm 0,636$ cm² Gewebsfläche gefunden. Pro Tier der Therapiegruppe konnten im Durchschnitt $2,17 \pm 0,89$ Gefäße als nicht klassifizierten Gefäßtyps identifiziert werden, in der Kontrollgruppe im Durchschnitt $0,67 \pm 0,54$.

5. Diskussion

5.1. Versuchsmodell

5.1.1. Auswahl der Versuchstiere

Für das Versuchsmodell wurden Schweine als Versuchstiere ausgewählt aufgrund der Ähnlichkeit der Koronaranatomie zum Menschen (Stubhan, 2008). Das Schweineherz besitzt wie das Menschliche ein koronares 3-Gefäßsystem. Das Kollateralgefäßnetz ist ähnlich dem des Menschen (Schaper, 1988) schwach ausgebildet, was für eine hohe Sensitivität bei einem Koronarverschluss sorgt. In Folge dessen weisen Schweine eine starke Ischämieempfindlichkeit auf. Die Restdurchblutung nach vollständigem Verschluss des RIVA beträgt beim Schwein nur noch ca. 0,7-1,4 % der ursprünglichen Durchblutung (Sjöquist, 1984).

Die Minipigs, auch Miniaturschweine genannt, wurden für den Versuch dieser Arbeit ausgewählt, da sie ein günstigeres Größenwachstum besitzen als Landschweine. Göttinger Minipigs wiegen im ausgewachsenen Zustand 35- 45 kg und erreichen 40 % ihres Gewichtes im Alter von 10 Monaten mit einem Gewicht von 21 kg. Im Gegensatz dazu erreichen Yorkscher Landschweine im gleichen Alter (10 Monate) ein Gewicht von 64 kg. Im ausgewachsenen Zustand wiegen die Yorkscher Landschweine 160 kg (Schuleri et al., 2008). Mit dieser enormen Massenzunahme des Landschweins verändert sich unter anderem das Herz und die Lage des Herzens entsprechend mit, welches ungünstigen Einfluss auf den Versuch haben könnte. Unter Umständen könnte der Bypass von der Arteria mammaria auf die Begleitvene des RIVA durch das Größenwachstum unter Zug gesetzt werden und damit die Funktionalität beeinträchtigen, welches zu einem schlechteren Outcome führen könnte. Daher schien das Minischwein optimal geeignet für den Versuch.

Unter den Minipigs fiel die Wahl auf Münchner Minipigs. Sie haben eine ähnliche Wachstumskurve wie die Göttinger Minipigs, nur können sie im ausgewachsenen Zustand etwas schwerer werden, bis zu 60kg. Vorteile gegenüber anderen Schweinezüchtungen sind eine hohe Bakterienresistenz und eine hohe Leukozytendichte, welches ein Vorteil bei großen Operationen sein kann.

5.1.2. Mikroangiopathie

Die Mikroangiopathie wird auch als small vessel disease oder coronary microvascular disease bezeichnet. Die small vessel disease ist eine kardiovaskuläre Krankheit, bei dem die kleineren Blutgefäße verengt sind, welches das arterielle System betrifft. Die Mikroangiopathie kann die Koronarperfusion bis hin zur Ischämie verschlechtern (Nahser et al., 1995). Dabei handelt

es sich um eine globale Hypoperfusion des Myokards. Das heißt, dass die Minderperfusion nicht nur auf einem lokalen Bereich begrenzt ist, sondern alle Teile des Herzens betreffen kann. Mit einem Durchmesser von 100µm der einzelnen Mikrosphäre im Versuch dieser Arbeit wurden die präkapillären Arteriolen und kleinere Gefäße verschlossen, welche die von der small vessel disease betroffenen Gefäße sind.

Es gibt viele Theorien zur Pathophysiologie der Mikroangiopathie. Den meisten Theorien gemeinsam ist, dass der Mikroangiopathie eine Endothelschädigung zugrunde liegt. Die Ursachen dafür sind vielfältig. Ein Ungleichgewicht von hormonellen, metabolischen und physikalischen Faktoren bewirkt eine Endotheldysfunktion, an der sich artherosklerotische Plaques setzen. Bei Diabetikern spielt der erhöhte Glucosespiegel eine Schlüsselrolle bei der Endotheldysfunktion (Strödter, 2004). Es wird behauptet, dass durch die Blutzuckererhöhung bedingte nicht-enzymatische Glykolisierung von Proteinen der Basalmembran sich die kapilläre Basalmembran verdickt (Williamson, Kilo, 1983). Die Dicke der Basalmembran korreliert mit der Dauer des Diabetes mellitus (Feingold et al., 1986). Zudem besteht ein direkter Zusammenhang zwischen dem Auftreten und der Ausprägung der Mikroangiopathie und der Qualität der Stoffwechselkontrolle (The Diabetes Control and Complications Trial Research Group, 1993). Bei pathologisch-anatomischen und histologischen Untersuchungen von diabetischen Herzen wurden Verdickung der Basalmembran, Intimaproliferation, perivaskulärer Fibrose, Verringerung der Kapillardichte und Mikroaneurysmen beschrieben (Factor et al., 1980).

5.1.3. Makroangiopathie

Da oft neben der Mikroangiopathie auch eine Makroangiopathie gefunden wird, wurde die Kombination der beiden Gefäßerkrankungen in den Versuchen dieser Arbeit simuliert.

Die Makroangiopathie ist mit Arteriosklerose assoziiert. Bei der Arteriosklerose kommt es zu Ablagerungen in der Gefäßwand, Plaques, die zu Engstellen in den Gefäßen und unter Umständen zum Verschluss des ganzen Gefäßes durch einen Thrombus führen können.

Durch eine hochgradige Stenose wird nicht genügend Blut in die Peripherie der Gefäße gepumpt, in diesem Fall in die Herzkranzgefäße. Dies führt zunächst zur Vasodilatation der nachfolgenden Gefäße um ausreichend Perfusion des Myokards aufrecht zu erhalten. Bei zunehmenden Stenosegraden, versagt dieser Kompensationsmechanismus, sodass es zu einer Minderung des Blutflusses hinter der Stenose kommen kann (Most et al., 1985). Dies kann zu einem mangelhaften Sauerstoffangebot führen, der, sofern nicht behandelt, zur Nekrose des Myokards führen kann.

Die Makroangiopathie ist die Hauptursache für die hohe Mortalität und Morbidität der Diabetiker. Die Arteriosklerose entwickelt sich beim Diabetiker schneller und breitet sich häufig diffus aus (Mogensen, Standl, 1989).

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit sollte die proximale Stenose eine Makroangiopathie simulieren. Mit einer mehr als 80%igen Stenose kommt es zur Limitierung der Ruhedurchblutung, wobei die Koronarreserve auf die Hälfte reduziert ist (Gould et al., 1974).

Die Koronarreserve bezeichnet den maximal möglichen Zuwachs des koronaren Sauerstoffangebots gegenüber dem Ruhewert durch 4- bis 6-fache Steigerung der Durchblutung (Siegenthaler, Blum, 2006).

Je nach Ausprägung und Anzahl der betroffenen Gefäße von der Makroangiopathie kommen verschiedene Therapieoptionen in Frage: Stent, Bypass, Endarteriektomie. Bei einer hochgradigen proximalen Stenose des RIVA, wie in diesem Versuch simuliert, wird bei der Wahl der Intervention eine Bypassoperation gegenüber einem Stent vorgezogen (Califf, Mark, 1994, Goy et al., 1994).

Durch die Kombination von Mikro- und Makroangiopathie wird die Frage nach der Therapie schwierig zu beantworten. Bei Diabetespatienten, bei denen die Mikro- und Makroangiopathie häufig zusammen auftreten, hat die koronare Bypassoperation ein besseres Outcome als die PTCA (Hlatky et al., 2009).

Dennoch bleibt bei der konventionellen Bypassoperation die periphere Gefäßenge (Mikroangiopathie) unbehandelt und das Myokard mangelversorgt.

5.1.4. Operationskonzept

5.1.4.1. Auswahl des Bypassgrafts

Die Arteria mammaria wurde in dieser Arbeit als In-situ-Graft verwendet, da diese den besten Outcome (Cameron et al., 1995) und im Langzeitverlauf die höchste Offenwahrscheinlichkeit hat, sowie deutlich weniger von Arteriosklerose betroffen ist im Vergleich zu anderen Arterien- und Venengrafts (Abad et al., 1995). Die Vena saphena kann als Graft Arteriosklerose durch die endothelen Schäden durch das Operationstrauma entwickeln (Motwani, Topol, 1998).

Es wird angenommen, dass die geringe Anzahl von glatten Muskelzellen in der dünnwandigen Media und die gut ausgebaute Lamina elastica interna der Arteria mammaria Ursachen für die geringe Neigung zu Arteriosklerose sein können (Sisto, 1990, van Son et al., 1990). Außerdem ist die Arteria mammaria eine elastische Arterie im Gegensatz zu anderen arteriellen Grafts wie Arteria radialis, Arteria epigastrica (van Son et al., 1990) und kann sich

deshalb gut an den Blutfluss anpassen (Abad et al., 1995). Die Arteria mammaria wird intraluminal mit Nährstoffen versorgt. Zudem ist die Lymphdrainage gut erhalten (Abad et al., 1995). Das Endothel bleibt während der Operation unverletzt, da die anatomische Lage nicht verändert wird im Vergleich zu anderen Grafts. Dieser Vorteil gilt nicht, wenn die Arteria mammaria als freies Transplantat verwendet wird. Über das Clippen der Seitenäste der Arteria mammaria wird kontrovers diskutiert (Gaudino et al., 1998). Es wird von einem Stealphänomen gesprochen. Dabei soll Blut in der Systole in die Seitenäste, vor allem die proximalen Seitenäste, abgelenkt werden und den Koronararterien folglich fehlen. Der systolische Blutfluss der Arteria mammaria gelangt in die Seitenäste und der diastolische Blutfluss in den RIVA. Der Fluss in die Seitenäste wurde bei Vasodilatation beobachtet, ist allerdings minimal (Kern, 1998). Haetz und Heuser (1997) haben in einigen Fällen aufgezeigt wie nach Okklusion eines großen Seitenastes der Arteria mammaria klinische und objektive Nachweise einer Ischämie wiederauftreten, nachdem sie durch einen Bypass der Arteria mammaria und RIVA aufgehoben war. Die Koronarfüllung findet in der Diastole statt und würde deshalb kaum von dem Stealphänomen betroffen (Gaudino et al., 1998). Luise et al. (1997) zeigten, dass das Stealphänomen in minimalem Maße auftreten kann und keinen Einfluss auf die Flussrate im RIVA hat. Auch verändert eine Okklusion der Seitenäste nicht entscheidend den Fluss in der Arteria mammaria (Kern, 1998). In der vorliegenden Arbeit wurde sich für das Clippen der Seitenäste der Arteria mammaria entschieden um das Ablenken des Blutes in die Seitenäste zu verhindern und damit ebenfalls eventuelle Blutungen.

5.1.4.2. Beating heart Chirurgie

Im Versuch dieser Arbeit wurde auf die Anwendung der Herz-Lungen-Maschine verzichtet. Dabei wurde gleichzeitig die transversale Aortenabklemmung und aortale Kanülierung unterlassen. Denn jede Manipulation der Aorta ist ein Risiko für Aortenverletzungen und Plaqueembolisationen (Hammon et al., 2006).

In einer Meta-Analyse wurde gezeigt, dass es bei der Off-pump Bypassoperation im Vergleich zur konventionellen Methode mit Herz-Lungen-Maschine eine geringere Anzahl von perioperativen Myokardinfarkten, Schlaganfällen, Reoperationen aufgrund von Blutung und Nierenversagen gibt und eine geringere Mortalität aufweist. Außerdem wurde eine Reduktion der Dauer des Krankenhausaufenthalts, Vorhofflimmern und Wundinfektion mit der Off-pump Bypassoperation assoziiert. Bei den Ergebnissen von erfahrenen Zentren handelt es sich um Tendenzen (Reston et al., 2003). Auch Sabik et al. (2002) konnten zeigen, dass in der Off-Pump Chirurgie die postoperative Morbidität herabgesetzt ist. In einer anderen Studie wurde

ein besseres klinisches 1-Jahres- Ergebnis für Patienten mit Off-Pump Operation gegenüber den Patienten mit Anschluss an die Herzlungenmaschine aufgezeigt (Magee et al., 2008).

In einer weiteren Studie wurde eine Off-Pump-Bypassoperation mit einer Angioplastie verglichen. In der Gruppe der Off-pump Operation war das Wiederauftreten von Angina pectoris gegenüber der anderen Gruppe reduziert. Signifikant vermindert war das Auftreten größerer ungünstiger Koronarereignisse. Das Überleben ohne Ereignis 1-5 Jahre war signifikant höher (Bainbridge et al., 2007).

Dem gegenüber steht das intraoperative Risiko des Auftretens von hämodynamischer Instabilität oder Kammerflimmern bei der Off-pump Operation, welches einen Anschluss an die Herz-Lungen-Maschine zur Folge hätte (Rastan et al., 2006).

Insgesamt sind trotz der reduzierten perioperativen Morbidität die Ergebnisse der beiden Verfahren für die Mortalität und schwerwiegenden Komplikationen vergleichbar (Rastan et al., 2006). Offensichtlich ist derzeit keine allgemeingültige Aussage über die Überlegenheit der beiden Verfahren zu treffen.

Aufgrund dieser Tendenzen des besseren klinischen Outcomes für die Patienten wird sich an erfahrenen Einrichtungen zunehmend für Off-pump-Bypassoperationen entschieden, vor allem bei multimorbiden Patienten. Aus den Gründen der guten Erfahrungen des Herzzentrums Leipzig mit Off-pump-Operationen und um das klinische Outcome der Tiere und die Ergebnisse verbessern zu können, wurde im Versuch dieser Arbeit die Off-pump-Methode angewandt.

5.1.5. Auswertung der Ergebnisse

Die venöse Revaskularisation ist eine Behandlungsmöglichkeit für die Mikro- und die Makroangiopathie.

Durch die Injektion von Mikrosphären wurden viele Mikroinfarkte in den präkapillären Arteriolen ($<100\mu\text{m}$) gesetzt. Der genaue Anteil an Mikrosphären pro Gewebstück konnte durch Auflösen des Myokards nach Entnahme des Herzens bestimmt werden (4.2.1.2.)

In der Herzkatheteruntersuchung direkt nach Eingriff war eine Fluss-Verlangsamung in den peripheren Anteilen des RIVA zu erkennen (4.2.1.1.), welches hinweisend für die Mikroangiopathie ist. Die Fluss-Verlangsamung wird dabei erst bei genauem Anschauen der einzelnen Sequenzen sichtbar.

Im EKG waren ST-Hebungen 15 Minuten nach Injektion der Mikrosphären in beiden Gruppen zu sehen. Die Herzfrequenz und der systolische und diastolische Blutdruck reagierten

jeweils mit einem Abfall. Diese Parameter zusammen ergeben das Bild eines Infarktes (4.2.5.).

7 Wochen nach Krankheitsentwicklung der Mikroangiopathie zeigte sich eine Reduktion der Ejektionsfraktion von $79,2 \pm 2,9\%$ auf $53,2 \pm 3,2\%$. Das ist ein Abfall um $37,8\% \pm 0,01\%$. Diese bereits in anderen Arbeiten beschriebene Entwicklung (Heusch, 2003) zeigt deutlich die Funktionsbeeinträchtigung des linken Ventrikels infolge der Mikroangiopathie.

Die Makroangiopathie wurde durch eine Stenose von durchschnittlich $84,6 \pm 4,3\%$ hervorgerufen, welche in anschließender Herzkatheteruntersuchung verifiziert wurde (2.2.2.2.). Mit einer solchen hochgradigen Stenose ist der Blutfluss trotz Koronarreserve bereits erheblich eingeschränkt und kann Ischämien verursachen.

Die Auswirkungen der Ischämie wurden an den Veränderungen im EKG deutlich. Unmittelbar nach Anlage der Stenose traten hauptsächlich ST-Senkungen in beiden Gruppen auf, welche hinweisend für eine Ischämie sein können (Hopenfeld et al., 2004). Andere Aspekte wie die Negativierung der T-Welle wurden nicht in Betracht gezogen, da sie sehr unspezifisch ist und nicht zur Quantifizierung geeignet ist.

Die Herzfrequenz stieg unmittelbar nach Anlage der Stenose in beiden Gruppen deutlich an, welches vermutlich durch die Stresssituation der eingeschränkten Ventrikelfunktion hervorgerufen wurde. Der systolische und diastolische Blutdruck fiel leicht ab, welches keine spezifische Aussage erlaubt, da die Tendenz zu gering war.

90 Minuten nach Stenose wurden die vorangegangenen Zeichen einer Ischämie weiter verstärkt. In der Kontrollgruppe, die ohne Therapie blieb, sanken die ST-Strecken weiter, die Herzfrequenz stieg an und der systolische Blutdruck blieb auf ähnlichem Niveau wie 90 Minuten zuvor. Die Konzentrationen der Enzyme CK und CKMB verhielten sich Ischämie-spezifisch und erzielten einen Anstieg in der Kontrollgruppe auf einen Wert deutlich höher als vor der Anlage der Stenose bestimmt wurde (4.2.4.). Somit konnte gezeigt werden, dass eine Ischämie hervorgerufen wurde.

Zu diesem Zeitpunkt war die Therapiegruppe bereits mit dem Bypass auf der Begleitvene des RIVA versorgt worden, welcher sauerstoffreiches Blut für das unterversorgte Myokard bereitstellen sollte. Die venöse Revaskularisation wurde in der Herzkatheteruntersuchung verifiziert (2.2.2.2.). Dabei wurde Kontrastmittel über die Arteria subclavia in die Arteria mammaria injiziert und die Füllung der revaskularisierten Vene und deren Seitenäste mit Kontrastmittel

kam zur Darstellung. Die Arterialisierung der Vene konnte auch histologisch gezeigt werden (5.2.).

Hinweisend für den Rückgang der Ischämie in der Therapiegruppe sind die Konzentrationen der Enzyme CK und CKMB. In der Therapiegruppe veränderten sich die Enzyme vom Zeitpunkt vor der Stenose und nach Bypass kaum.

In der EKG-Auswertung stellten sich nach Anlage des Bypasses in der Therapiegruppe geringe ST-Hebungen dar, welche unmittelbar nach Stenose noch ST-Senkungen waren. Diese Beobachtung könnte zeigen, dass durch die venöse Revaskularisation die Ischämie aufgehoben wurde, welche die ST-Hebungen durch die Mikroinfarkte überdeckte und deshalb nach Therapie erneut zum Vorschein kam. Somit waren keine Zeichen einer Ischämie nach venöser Revaskularisation in der Therapiegruppe zu erkennen. Es ist anzunehmen, dass durch den venösen Bypass die durch die Stenose hervorgerufene Ischämie aufgehoben wurde.

Die Herzfrequenz, systolischer und diastolischer Blutdruck wiesen keine relevanten Veränderungen auf. Diese Größen verzeichneten lediglich einen leichten Anstieg, welches auch in der Therapiegruppe für eine gewisse Stresssituation bei offenem Thorax über mehrere Stunden spricht.

Nach 17 Wochen wurde erneut die Ejektionsfraktion bestimmt, um weitere Auswirkungen der Makroangiopathie im Vergleich mit und ohne Therapie zu beurteilen. Dabei wurde ein signifikanter Unterschied in der Veränderung der Ejektionsfraktion der beiden Gruppen festgestellt. Die Ejektionsfraktion der Kontrollgruppe fiel 10 Wochen nach Anlage der Stenose auf $40,3 \pm 3,5\%$ und stieg im selben Zeitraum in der Therapiegruppe auf $67,5 \pm 4,05\%$ an. Dieser Wert entspricht $88,2 \pm 0,06\%$ vom Basiswert der Ejektionsfraktion 17 Wochen zuvor. Bei der Kontrollgruppe waren es lediglich $48,7 \pm 0,06\%$ vom Basiswert. Dies bedeutet eine signifikante Überlegenheit der venösen Revaskularisation gegenüber der Kontrollgruppe. Dieses Ergebnis zeigt die verbesserte Kontraktilität des Myokards, welches durch die revaskularisierte Vene versorgt wurde.

Die Effektivität des Bypasses ist wahrscheinlich an das kombinierte Vorhandensein einer Mikroangiopathie und einer Makroangiopathie gebunden. Denn vermutlich wird durch die proximale Stenose die venöse Revaskularisation möglich: die Stenose von über 80 % reduziert den Blutdruck distal der Stenose erheblich, da die Koronarreserve in diesem Bereich des Stenosegrads bereits stark eingeschränkt ist. Das Hagen-Poiseuille-Gesetz zeigt, dass der Strömungswiderstand in hohem Maße von Änderungen des Radius abhängt.

$$Q = \Delta p \left(\frac{\pi}{8} \right) \left(\frac{1}{\eta} \right) \left(\frac{r^4}{l} \right) \quad (\text{Siegenthaler, Blum, 2006})$$

Δp = Druckgradient zwischen Rohranfang und Ende

η = Viskosität der Flüssigkeit/Blutviskosität

l = Länge des Rohres/Gefäßlänge

r = Radius des Rohres/Gefäßradius

Dementsprechend verändert sich das Druckgefälle bei einer Stenose. Verkleinert sich der Radius um 80% so steigt der Druckgradient deutlich an: $\Delta p = \frac{1}{r^4}$.

Der Druck distal der Engstelle ist jedoch um das 4fache reduziert (Siegenthaler, Blum, 2006). Das Hagen- Poiseuille-Gesetz geht von Flüssigkeiten als Konstante aus, welche das Blut nicht ist aufgrund von veränderter Viskosität durch Hämatokrit und großmolekularen Proteinen. Des Weiteren ist der Blutfluss pulsatil und die Gefäßwände sind elastisch. Dennoch können mit dem Gesetz Gefäßradius und Druckgefälle in einen physikalischen Zusammenhang gesetzt werden.

Man geht davon aus, dass die Arteriolen den größten Widerstand darstellen. Diese sind in der Lage sich bei einer proximalen Stenose zu dilatieren um den peripheren Blutfluss und Gewebepfusion aufrecht zu erhalten. Zusätzlich sinkt durch eine proximale Stenose der Tonus der glatten Muskulatur der Arteriolen. Dies ist eine Autoregulation zur Aufrechterhaltung der Durchblutung distal des Verschlusses durch metabolisch vasoaktive Substanzen, den Abfall des transmuralen Drucks und durch lokale humorale Faktoren (Siegenthaler, Blum, 2006). Dies hat ebenfalls zur Folge, dass der Druck distal der Stenose sinkt.

Diese sind die Voraussetzungen zur Funktionalität der venösen Revaskularisation.

Nur dadurch kann vom venösen Gefäßschenkel das arterielle Blut aus der Arteria mammaria in umgekehrter Blutflussrichtung in das Kapillarbett fließen und das umliegende Myokard versorgen. Ohne die proximale Stenose wäre der Druck im arteriellen Schenkel zu hoch, dass arterielles Blut in der Vene umgekehrt fließen kann. Im Kapillarbett würde kein arterielles Blut aus der Vene ankommen.

Kay und Suzuki haben in ihren Arbeiten 1975 bereits versucht, den Druck vom arteriellen Schenkel zu nehmen um das Outcome für den Bypass Arteria mammaria - Begleitvene RIVA zu verbessern. Durch einen zusätzlichen Bypass vom RIVA zur Pulmonararterie oder dem linken Vorhof sollte der Druck im arteriellen Bereich herabgesetzt werden, mit Erfolg. Durch die Reduzierung des Drucks konnte die Vene revaskularisiert werden. Jedoch waren die Wis-

senschaftler von der Methodik der Revaskularisation im Ganzen noch nicht überzeugt aufgrund des Auftretens von starken Hämorrhagien (Kay, Suzuki, 1975). In den Versuchen von Kay und Suzuki wurde keine Mikroangiopathie hervorgerufen, wie in den Versuchen der vorliegenden Arbeit. Dies könnte zusätzlich zu den weniger erfolgreichen Ergebnissen geführt haben.

Da nun die Vene als Arterie fungiert, fällt ihre Aufgabe des Transports des venösen Blutes weg. Es stellt sich die Frage, inwieweit der venöse Abfluss gewährleistet ist.

Für das venöse Blut gibt es zwei Abflusswege. Der größte Teil fließt in die epikardialen Venen über den Sinus coronarius in den rechten Ventrikel. Der restliche Teil fließt intramural und besteht aus arterioluminalen, arteriosinusoidalen und thebesianischen Venen (Bates et al., 1977). Schon Pratt (1898) beschrieb eine direkte Verbindung zwischen den thebesianischen Venen und den Koronarvenen, jedoch nicht mit den Koronararterien, durch ein nicht-kapilläres vaskuläres Bett. So wird heute davon ausgegangen, dass thebesianische Venen sowohl eine Verbindung zu den Koronarvenen als auch Koronararterien besitzen und das Blut in den rechten Ventrikel transportieren (Singhal, Koury, 2008).

Die arterioluminalen und arteriosinusoidalen Gefäße verbinden die Koronararterien und die Herzkammern miteinander. Hammond und Austen berichteten, dass 48 % des Flusses des RIVA in den Sinus coronarius geleitet wird, 34 % von den thebesianischen Venen in den rechten Ventrikel und 12 % von den anterioren Venae cordiae in den rechten Ventrikel und 5 % von myokardialen sinusoiden Gefäßen in den linken Ventrikel (Hammond, Austen, 1967). Da die Begleitvene des RIVA jetzt als Arterie fungiert, kann sie das venöse Blut nicht abtransportieren. Es ist anzunehmen, dass das venöse Blut hauptsächlich über die thebesianischen Venen in den rechten Ventrikel abtransportiert wird. Durch den langsamen Abfluss der drainierenden Venen, ist dieser Blutfluss angiografisch nicht darstellbar.

Die Effektivität der Myokardperfusion durch den Bypass in allen drei Schichten des Myokards gelangen Hochberg et al. (1979) mithilfe von Mikrosphären nachzuweisen. Weiterhin wird davon ausgegangen, dass nur ein kleiner Teil des arteriellen Bluts aus der Vene über Kollateralen zurück in den Sinus coronarius fließt und der größte Teil als nutritiver Blutstrom im Kapillarbett angelangt (Gardner et al., 1974).

Wie aus den vorangegangenen Erläuterungen gezeigt werden konnte, stellt die venöse Revaskularisierung eine effektive Therapiemethodik bei Vorliegen einer kombinierten Makro- und

Mikroangiopathie dar, die das ischämische Myokard wieder mit Sauerstoff versorgt und somit die Herzleistung steigert.

5.2. Umbau des Gefäßsystems

Die histologische Auswertung fand 10 Wochen nach der venösen Revaskularisierung statt. Dabei wurden die Gefäße aus vier verschiedenen Bereichen des Herzens untersucht, aus dem rechten und linken Ventrikel, dem Septum und dem arteri coronaren Bypass.

In einer ersten Betrachtung der arteriellen und venösen Gefäße war die durchschnittliche Fläche des Gefäßlumens der arteriellen Gefäße im Bereich des arteri coronaren Bypasses scheinbar deutlich größer als die Lumenfläche aller anderen Gefäße in den anderen Bereichen (4.3.1.). Die gleiche Beobachtung wurde für die durchschnittliche Wanddicke gemacht. Aufgrund dieser Auffälligkeiten wurde der Bereich des arteri coronaren Bypasses genauer betrachtet. Dabei wurde ein zunächst nicht klassifizierbarer Gefäßtyp gefunden mit Eigenschaften die zwischen Arterie und Vene lagen. Dieser Gefäßtyp wurde in der ersten Betrachtung zu den arteriellen Gefäßen gezählt und beeinflusste so den Vergleich der arteriellen und venösen Gefäße. Die Merkmale des nicht klassifizierten Gefäßtyps waren zum einen eine Wanddicke, die die einer Arterie entsprach und zum anderen eine Fläche des Gefäßlumens, die der einer Vene entsprach (4.3.2.). Im Vergleich der drei Gefäßtypen im Bereich der Anastomose zeigten sich diese Merkmale beim nicht klassifizierten Gefäßtyp. Mit den Werten der relativen Wanddicke lag der nicht klassifizierte Gefäßtyp zwischen den Werten der Arterien und Venen.

Dieser Gefäßtyp wurde ausschließlich im Bereich der Anastomose gefunden. Das führt zur Annahme, dass in der Therapiegruppe ein Umbau von Gefäßen stattgefunden hat infolge der venösen Revaskularisierung. Dieser Gefäßumbau, welcher in dieser Arbeit als nicht klassifizierter Gefäßtyp bezeichnet wurde, betrifft wahrscheinlich die arterialisierten Venen. Diese würden durch das arterielle Blut, das durch sie fließt, einen deutlich höheren Druck erfahren und dies durch Umbau der Gefäßwand kompensieren.

Die Schichten der Gefäßwand einer Vene und Arterie sind die gleichen. Jedoch sind die Wandschichten in der Vene weniger abgrenzbar, die Wanddicke ist deutlich kleiner und es liegen weniger Längsmuskeln in der Media vor (Junqueira, Carneiro, 2004). Der arterielle Blutdruck durch die Arterien erreicht Werte von 80 mmHg in den Koronargefäßen (Roskamm et al., 2004). Dahingegen sind die Venen einem Druck annähernd des rechten Vorhofs von 1-9 mmHg ausgesetzt. Dies macht verständlich, dass die arterialisierte Vene, die nach Revaskularisation einen deutlich höheren Druck standhält, sich in ihrer Struktur anpasst und verändert.

Unter physiologischen Bedingungen sind Venen nicht von Arteriosklerose betroffen (Bhayana et al., 1974), da die Gefäßwände keinem hohen Druck ausgesetzt sind. Wissenschaftler haben in der Vena saphena Arteriosklerose gefunden nachdem sie als Venengraft verwendet wurde (Hassantash et al., 2008). Mit dem erhöhten Druck verstärken sich die Scherkräfte, die auf die Gefäßwand wirken und erhöhen damit die Anzahl der Endothelschäden und das damit verbundene Risiko für Arteriosklerose.

Bei dem nicht klassifizierten Gefäßtyp zum Zeitpunkt 10 Wochen nach venöser Revaskularisation konnte eine stark verdickte Gefäßwand von $70 \pm 10 \mu\text{m}$ gemessen werden. Im Vergleich dazu wurde eine durchschnittliche Wanddicke bei den Venen im Bereich der Anastomose bestimmt von $9,97 \pm 0,94 \mu\text{m}$ und bei den Arterien $20,02 \pm 2,2 \mu\text{m}$.

Auch das Gefäßlumen des nicht klassifizierten Gefäßes wies mit durchschnittlich $134 \pm 69 \mu\text{m}^2$ eine enorm große Fläche im Vergleich zu den anderen Gefäßtypen auf. Die Arterien erreichten eine Lumenfläche von $2,6 \pm 0,5 \mu\text{m}^2$ und die Venen von $4,1 \pm 0,8 \mu\text{m}^2$.

Damit wird deutlich, dass sowohl eine Dilatation der Vene stattgefunden hat, als auch eine Proliferation der Gefäßwand.

Bei Bypassoperationen am Herzen oder bei Shunts werden oft Venengrafts verwendet. Ein Venengraft bezeichnet ein venöses Gefäß, welches als Transplantat eingesetzt wird. Sie sind den arteriellen Grafts in ihrer Funktionalität nicht überlegen, werden aber verwendet, wenn die Arteria mammaria nicht genutzt werden kann. Denn die Arteria mammaria ist allen anderen Grafts im Langzeitergebnis überlegen.

In einigen Untersuchungen konnten histologische Veränderungen an den Venengrafts festgestellt werden, wie etwa fibromuskuläre Intimahyperplasie vor allem auf dem Boden der coronararteriellen Bypassgraft (CABG)-Anastomose und den Anastomosenähten (Sottiurai et al., 1983). Der erhöhte Druck und die verstärkten Zugkräfte auf die Gefäßwand können eine Zunahme von Fibroblasten-Wachstumsfaktor-Rezeptoren verursachen und somit eine Intimahyperplasie hervorrufen (Butany et al., 1998). Die Intimahyperplasie wird als Adaptation der Venen an den erhöhten Druck angesehen (Parang, Arora, 2009). Dabei kann der Gefäßdurchmesser um bis zu 25% kleiner werden (Motwani, Topol, 1998).

Bei venösen Shunts für Hämodialyse werden ebenfalls langfristig eine Intimahyperplasie beobachtet, die zu Stenosen führen kann (Lee, Roy-Chaudhury, 2009).

Auch physiologischer Weise gibt es arteriovenöse Fisteln, das heißt Venen, durch die arterielles Blut fließt. Wahrscheinlich könnten die zwei Gefäße, welche in der Kontrollgruppe gefunden wurden und auch als nicht klassifizierter Gefäßtyp eingeordnet wurden, solche Fis-

teln darstellen, die möglicherweise im Rahmen des post-Infarkts ein Remodelling erfuhren. Denn auch arteriovenöse Fisteln weisen Wandumbau in Form einer Intima-Media-Verdickung auf durch die veränderten Druckverhältnisse (Langer et al., 2009).

In einem Minipigmodell wurden Vena saphena-Grafts histologisch untersucht und eine hyperplastische Intima mit einer massiven Ansammlung von glatten Muskelzellen mit hoher Proliferationsrate und endothelialer Störung gefunden, dazu einen Anstieg des Von-Willebrand Faktors. Diese Befunde sind hinweisend für eine endotheliale Dysfunktion (Popov et al., 2008).

Bei genauer Betrachtung der verdickten Wand der arterialisierten Venen in der vorliegenden Arbeit ist zu erkennen, dass es sich bei der Verdickung der Gefäßwand nicht um die Intima handelt, sondern um die Media.

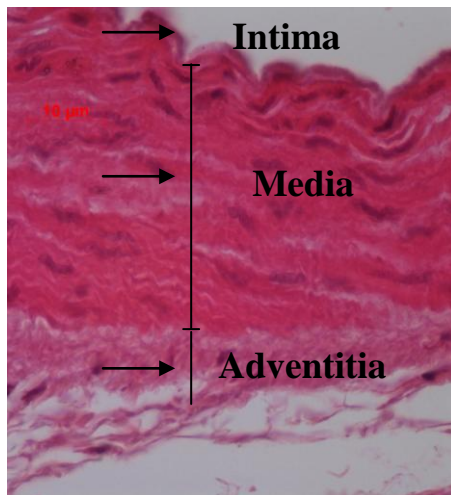


Abbildung 30: Histologischer Ausschnitt aus der Gefäßwand eines nicht klassifizierten Gefäßes

Dies könnte als Ursache haben, dass in der Intima der Vene durch das unterlassene Operationstrauma keine Schäden provoziert werden und wahrscheinlich deshalb die Intima nicht proliferiert. Die Vene wird ausschließlich arteriellem Druck ausgesetzt. Aufgrund dessen verändert sich hauptsächlich die Media, die sich vermutlich durch die Proliferation von Muskelzellen verdickt.

Ob es langfristig noch zu einer Intimaproliferation kommt, ist schwer einzuschätzen.

Motwani und Topol (1998) beschreiben, dass zunächst die glatten Muskelzellen der Media proliferieren als Reaktion auf Wachstumsfaktoren und Zytokine von Plättchen, aktivierten Endothelzellen und Makrophagen. Darauf folgt die Migration von glatten Muskelzellen in die Intima und deren Proliferation. Später führt die Synthese und Verschiebung von extrazellulärer Matrix von den aktivierten glatten Muskelzellen zu einem progressiven Anstieg von Intimafibrose und Reduktion von Zellularität.

Außerdem wurde in einem Kanninchenmodell ein Anstieg von bFGF (basic fibroblast growth factor) durch den entstandenen Wandstress durch den hohen arteriellen Druck bestimmt. Dieser bFGF ist ein potentes vaskuläres Mitogen, welches von geschädigten Endothel- und glatten Muskelzellen abgegeben wird (Nguyen et al., 1994). Durch den hohen Druck wird die Wand geweitet und dadurch die mittlere Blutgeschwindigkeit gesenkt, welches wiederum die Scherkräfte in der Gefäßwand reduziert (Allaire, Clowes, 1997). Diese Minderung der Scherkräfte führt zur gesteigerten Abgabe von Wachstumsfaktoren (Mitogene, PDGF, endothelin 1, transforming growth factor- β , NO), welche das Gleichgewicht zur Proliferation von glatten Muskelzellen und Intimahyperplasie lenken (Motwani, Topol, 1998).

Aufgrund dieser Aspekte wird bereits deutlich, dass man die Veränderungen von Venengrafts nicht direkt mit denen der arterialisierten Begleitvene vergleichen kann. Die Koronarvenen besitzen keine Venenklappen (Chiu, Mulder, 1975) und brauchen deshalb nicht um 180° gedreht werden vor der Implantation wie bei der Vena saphena. Durch die Beibehaltung der anatomischen Lage der Begleitvene erfährt sie ein geringeres Trauma als beispielsweise die Vena saphena oder andere Grafts durch Distension (Angelini et al., 1989). Durch ein geringeres Trauma ist mehr intaktes Endothel vorhanden und dadurch mehr endothelium-derived relaxing factor (EDRF), welches für eine bessere Antiaggregation und mehr Vasodilatation sorgt. Bei größeren Endothelschäden wird weniger EDRF ausgeschüttet, welches mit einem Verlust von Endothelschutz assoziiert ist. Der endothelium-derived relaxing factor ist ein potenter Vasodilatator und hemmt die Plättchenadhäsion und -aggregation, welche mit früher Graftthrombose zusammenhängen können (Angelini et al., 1989).

Venen werden stärker von ihren Vasa vasorum versorgt. Dies liegt vermutlich am niedrigeren Gehalt an Sauerstoff und Nährstoffen im venösen Blut. Die Koronarvene wird weiterhin von ihren Vasa vasorum versorgt im Gegensatz zu den Venengrafts. Das Entfernen des Gefäßes von der Vasa vasorum kann die Ischämie und Fibrose verstärken (Motwani, Topol, 1998).

Ein weiterer wichtiger Unterschied ist der transmurale Druck. In einem Bypassgraft wie der Vena saphena ist der Druckunterschied zwischen dem intravaskulären und extravaskulären Raum sehr hoch. Da das Gefäß nicht in einem Gewebe eingebettet ist, entspricht der extravaskuläre Druck dem intrathorakalen Druck. Bei einem intravaskulärem Druck im Mittel von 100 mmHg ist ein transmuraler Druck von ca. 100 mmHg vorhanden. Im Gegensatz dazu liegt die Begleitvene des RIVA fest im Epikard und stößt auf einen Gewebedruck abhängig von der Herzphase. Während der Systole ist der extravaskuläre Druck nahezu gleich dem intravaskulärem Druck (Quatember, 2009), welches einen sehr niedrigen transmuralen Druck

zur Folge hat. In der Diastole hingegen nimmt der transmurale Druck stark zu. Durch die Erschlaffung des Myokards fällt der extravasale Druck auf bis zu 30 mmHg (Friedrich, 2007). Mit einem gleichen intravaskulären Druck von im Mittel 100 mmHg, stellt dies einen pulsatischen Druckunterschied von 0-70 mmHg dar. Es ist zu vermuten, dass der Stress der Venenwand dadurch verringert ist und sich deshalb ausschließlich eine Mediahypertrophie ausbildet, welche im Gegensatz zur Intimahyperplasie keine Gefäßverengung zur Folge hat. Schlussfolgernd wird deutlich, dass die Pathogenese der histologischen Veränderungen von vielen Faktoren beeinflusst wird: Häodynamik (pulsatiler und erhöhter Druck), Operations-trauma und dadurch resultierende Endothelschäden und murale Ischämie durch das Fehlen der Vasa vasorum (Campbell et al., 1981). Dementsprechend sind die histologischen Veränderungen in der revaskularisierten Begleitvene des RIVA andere als in den Venengrafts und scheinen zudem weniger folgenschwer.

5.3. Limitationen des Modells

In dieser Arbeit ist es gelungen die venöse Revaskularisation als effektive Therapieoption nachzuweisen. Dennoch sind ungünstige Faktoren und Bedingungen aufzuzeigen. Außerdem wird die Auswahl bestimmter Methoden erläutert.

5.3.1. Anzahl Versuchstiere

Durch die geringe Anzahl der Tiere in der Auswertung wird die Interpretation der Ergebnisse eingeschränkt. Besonders bei den Vitalparametern, die sich in sehr kurzen Zeitabschnitten schnell verändern, ist eine größere Anzahl Tiere notwendig, um spezifische Aussagen treffen zu können.

Die geringe Fallzahl liegt zum einen am Versterben einiger Tiere während der Versuchreihe und zum anderen an technischen Schwierigkeiten, weshalb weitere Tiere nicht in die Auswertung eingeschlossen werden konnten (siehe Tabelle 3). Die technischen Schwierigkeiten in der Anlage der Anastomose bestanden aufgrund der dünnen Gefäßwand der Vene, des Blutes im Operationsfeld bei der beating heart Chirurgie und außerdem der Unmöglichkeit der Verwendung eines Shunts.

Eine Ursache für die Undurchlässigkeit des Bypasses kann ein thrombotischer Verschluss sein. Intrahospitalfrühverschlüsse von Venenbypässen bei konventionellen Bypassoperationen treten mit einer Häufigkeit von 8-12 % auf. Innerhalb des ersten postoperativen Jahres liegt die Verschlussrate bei 15-30% (Bourassa, 1994). Der Verschluss des Bypasses kommt häufig direkt an der Anastomose selbst vor, selten in der Arteria mammaria. Auch kann die Arteria subclavia eine Stenose aufweisen, dies ist jedoch sehr selten. Dabei ist zu bedenken, dass die

Tiere ausschließlich mit einer täglichen Dosis von 100 mg ASS antikoaguliert wurden und in der Klinik zum Beispiel durch eine Marcumartherapie von 8 Wochen die Durchgängigkeit des Bypasses positiv beeinflusst wird, vor allem bei Flussgeschwindigkeiten von weniger als 90ml/min (Gohlke et al., 1981).

Bei den Bypassverschlüssen 10 Wochen nach Anlage des Bypasses konnte gleichzeitig keine Stenose mehr aufgefunden werden. Es ist zu vermuten, dass die Bypässe aufgrund der aufgehobenen Stenose verschlossen. Durch die fehlende Stenose wäre der Druck auf dem arteriellen Schenkel zu hoch. Dadurch würde nicht mehr ausreichend arterielles Blut durch die Vene fließen und der Bypass sich verschließen. Die betroffenen Tiere wurden nicht in die Auswertung eingeschlossen.

Bei den Tieren der Kontrollgruppe, die postoperativ verstorben sind, waren wahrscheinlich Herzrhythmusstörungen ursächlich. Dies ist eine häufige perioperative Komplikation nach langanhaltender Ischämie wie sie in der Kontrollgruppe provoziert wurde. Das postoperativ verstorbene Tier in der Therapiegruppe kann trotz Therapie auch an Herzrhythmusstörungen verstorben sein, da ebenfalls eine Ischämie hervorgerufen wurde. Zusätzlich besteht bei Bypassoperationen eine perioperative Gesamtmortalitätsrate von 2,7% nach Informationen von der Society of Thoracic Surgeons Database 2002.

Ingesamt war zu beobachten, dass am Anfang der Versuche deutlich mehr Tiere verstarben als am Ende. es konnten im Versuchsverlauf zunehmend bessere Ergebnisse erzielt werden. Dies ist der Lernkurve bedingt, d.h. durch zunehmende Erfahrung im Laufe des Experiments treten weniger Fehler auf, werden bessere Ergebnisse erreicht.

Da die Versuche sehr kostenspielig waren, konnten nicht noch zusätzliche Versuche mit weiteren Tieren durchgeführt werden.

5.3.2. Methodik und funktionelle Parameter

Die Ejektionsfraktion zählt zu den wichtigsten Prädiktoren der Langzeitprognose. Simoons (1989) zeigte auf, dass eine Ejektionsfraktion von <30% nach 3 Jahren eine Mortalität von 60% aufweist. Viele verschiedene Methoden zur Bestimmung der Ejektionsfraktion finden im klinischen Alltag Anwendung. Es werden unter anderem die monoplanen und biplanen Verfahren verwendet, außerdem die Flächen-Längen-Methode oder die Scheibchensummationsmethode nach Simpson (Roskamm et al., 2004). Im Versuch dieser Arbeit wurde die M-Mode-Echokardiographie angewandt (2.3.1.). Die zweidimensionale

Echokardiographie bietet die beste strukturelle und zeitliche Auflösung mit räumlicher Orientierung und zur Kontrolle orthogonaler Schallausrichtung. Dabei handelt es sich um die am häufigsten verwendete Methode in Studien (Thelen, 2007).

Bei Vergleichen von Werten der Ejektionsfraktion sollte immer die gleiche Methode verwendet werden. Denn es werden bei den verschiedenen Methoden unterschiedliche Ergebnisse erzielt, welches zum einen an der unterschiedlichen Technik liegt und zum anderen an der Erfahrung des Untersuchers. Aufgrund dessen ist die Auswahl der Methodik nicht so entscheidend wie die Verlaufskontrolle mit derselben Methodik. Im Versuch dieser Arbeit wurden deshalb die Methodik und der Untersucher nicht gewechselt.

Die Mikro- und Makroangiopathie, sowie die Strömungsumkehr durch den Bypass wurden qualitativ durch die Herzkatheteruntersuchung ausgewertet. Eine quantitative Auswertung der Myokardversorgung wäre wünschenswert gewesen, jedoch war die Qualität der Herzkatheterfilme nicht vergleichbar aufgrund der unterschiedlichen Graustufen, die nicht einheitlich waren. In künftigen Studien könnte man die Perfusion im Myokard mit Verfahren wie Thermographie, Thallium-Szintigraphie oder Positronenemissionstomographie darstellen. Diese sehr aufwendigen Verfahren standen für die Versuche der vorliegenden Arbeit nicht zur Verfügung. Die Arbeit hat einen explorativen Charakter und soll die Durchführbarkeit der Versuche zeigen.

Die Elektrokardiographie des Schweins ist nur bedingt mit dem des Menschen zu vergleichen. Einige Faktoren beeinflussen die Projektion der elektrischen Aktivität auf die Körperoberfläche. Die Herzachse liegt beim Schwein eher senkrecht (Eckenfels, Schuler, 1988). Die Herzspitze steht mittig und ist insgesamt verdreht, sodass der linke Ventrikel fast ventral liegt. Die Form des Herzens ist eher kugelig, die Extremitäten sind deutlich kürzer als beim Menschen und der höhere Fettanteil an der Gesamtmasse sind Einflüsse, die in eine unterschiedliche elektrische Aufzeichnung resultieren. Deshalb ist eher der Verlauf der EKG-Veränderungen als die absoluten Werte der Veränderungen zur Auswertung sinnvoll, wie es daher auch in der vorliegenden Arbeit durchgeführt wurde.

Eine minimale akzeptable Blutflussgeschwindigkeit der Arteria mammaria beim Menschen von 50ml/min wurde von Green (1972) empfohlen als Voraussetzung zur Verwendung des Gefäßes als Bypassgraft. Mills und Bringaze (1989) beurteilten 120ml/min als optimalen

Fluss der Arteria mammaria zum Einsatz als Bypassgraft, wobei bei ihnen die Arteria mammaria pharmakologisch behandelt wurde und dadurch maximal dilatiert war.

Für die Werte der Ultraschallflussmessung gilt ebenfalls keine direkte Übertragbarkeit von den Werten in menschlichen Gefäßen auf die des Schweins und umgekehrt. Referenzen für Flussraten bei Schweinen sind bisher literarisch nicht veröffentlicht worden.

Darüber hinaus ist bei der Arteria mammaria eine Flussminderung in der frühen postoperativen Phase beobachtet worden, welche sich aber spätoperativ durch Lumenweitung ausgleicht (Hombach, 2001).

In der vorliegenden Arbeit ist die Flussgeschwindigkeit proximal der Anastomose gemessen worden. Mit einem Durchschnittswert von $13,75 \pm 4,32$ ml/min konnte ein Fluss im Bypass nachgewiesen werden. Leider konnte im Versuchsteil 3 keine weitere Ultraschallmessung durchgeführt werden, da die Arteria mammaria aufgrund von zu starken Verwachsungen nicht präpariert werden konnte.

Alle anderen Parameter wie Herzfrequenz, arterieller Blutdruck und Ejektionsfraktion sind in ihren absoluten Werten ebenfalls nicht 1:1 auf den Menschen übertragbar. Die Verläufe der Parameter sind bei der Beurteilung und Auswertung ausschlaggebend.

5.4. Mögliche klinische Anwendungen der Operationstechnik

Die Anwendung der venösen Revaskularisation ist für ein begrenztes Patientenkollektiv bestimmt. Das Ziel dieser Untersuchung war es Alternativen für Patienten zu schaffen, die von der konventionellen Methodik nicht profitieren oder damit nicht behandelt werden können.

Es wurde berichtet, dass für ca. 20% der Patienten, die einer Bypassoperation bedürfen, eine konventionelle Bypassoperation nicht möglich ist (Arealis et al., 1973, Gardner et al., 1974, Moll et al., 1975).

Für dieses Patientenkollektiv wurde bereits in den 70er Jahren versucht andere Methoden zu etablieren. Die venöse Revaskularisation wurde an Tieren als auch an ausgewählten Patienten angewandt. Es wurde von vielen positiven Ergebnissen (Carabello et al., 1976, Hochberg et al., 1979) berichtet. Dabei konnte unter anderem nutritiver Blutfluss retrograd nachgewiesen werden und die Infarktgröße verringert werden (Chiu, Mulder, 1975). Andere konnten eine Ischämie aufheben, welche anhand von EKG-Veränderungen bewertet wurde (Bhayana et al., 1974). Außerdem konnten ausgesuchte Patienten von der venösen Revaskularisation scheinbar profitieren (Benedict et al., 1975, Park et al., 1975).

Weniger erfolgreiche Ergebnisse (Marco et al., 1977, Zajtchuk et al., 1976) wurden ebenfalls verzeichnet. Diese konnten unter anderem keinen Fluss im Bypass nachweisen.

Die Hintergründe für die vielen unterschiedlichen Ergebnissen liegen nach Analyse von Hochberg et al. (1979) am ungenügenden Fluss der Arterie mammaria, der Technik der Anastomosenanlage, die Lokalisation der Stenose am RIVA und die verschiedenen Zuflüsse des Bypassgefäßes. Ebenfalls spielt die Wahl des Bypassgefäßes eine Rolle.

Jedoch wurde bis zum jetzigen Zeitpunkt die venöse Revaskularisation nicht bei Vorliegen einer kombinierten Mikro- und Makroangiopathie untersucht.

Aus der vorliegenden Arbeit und den obigen Überlegungen ergibt sich, dass die venöse Revaskularisierung wahrscheinlich nur effektiv ist, wenn durch eine Makroangiopathie der Druck im arteriellen Schenkel der Koronarien niedrig genug ist.

Die Verwendung der Arteria mammaria als koronararterieller Bypassgraft (CABG) ist mit einer Offenheitsrate von über 90% eine sehr erfolgreiche Operationsmethode (Okies et al., 1984, Zeff et al., 1988). Die meisten Frühverschlüsse treten bei Venengrafts auf, die auf die operationstechnischen Faktoren wie die Behandlung der Venengrafts bei Entnahme und Präparation vor der Implantation und damit verbundene provozierte Endotheldefekte mit entsprechender Thrombenfolge zurückzuführen sind (Bryan, Angelini, 1994). Diesen Faktoren ist die Begleitvene des RIVA nicht ausgesetzt. Die Kombination dieser beiden Gefäße lässt deshalb langfristig ein gutes Outcome erwarten. Dass neben dem akuten Versuch der venösen Revaskularisation mittels Bypass von der Arteria mammaria auf die Begleitvene des RIVA (Resetar et al., 2007) der chronische Verlauf erfolgreich ist, konnte in der vorliegenden Arbeit nachgewiesen werden.

Das Ziel der venösen Revaskularisation ist es das Ischämiegebiet zu verringern. Dass das ischämische Myokard durch die venöse Revaskularisation signifikant wiederhergestellt werden kann, haben bereits Meerbaum et al. (1976) in ihren Versuchen nachgewiesen, allerdings ohne eine Mikroangiopathie hervorgerufen zu haben. In den Versuchen dieser Arbeit, wurde direkt nach Anlage der Stenose der Bypass gelegt und so war es möglich das unterversorgte Myokard durch die arterielle Perfusion von der Ischämie zu „befreien“ (5.1.4.).

Es können keine Urteile gemacht werden für den Fall einer schon länger zurückliegenden Ischämie. Ob dann die Methode noch so effektiv ist, müsste in weiteren Studien untersucht werden. Es ist jedoch ein Benefit zu erwarten, denn der konventionelle Bypass wird ebenfalls nach chronischen hochgradigen Stenosen operiert und erzielt positive Langzeitergebnisse. Aus den Ergebnissen des CASS Registry (Cameron et al., 1995) geht hervor, dass 60% der Patienten 6 Jahre nach Bypassoperation noch beschwerdefrei sind.

Zu dem Patientenkollektiv, die für diese Operationsmethode in Frage kommen, gehören Patienten, die keiner Bypassoperation oder PTCA zugeführt werden können aufgrund ihrer Koronarpathologie. Das sind Patienten mit diffuser Arteriosklerose, dissezierten Herzkrankgefäßen, peripheren Stenosen. Dies bestätigt Bhayana (1974), dass Patienten mit schwerer distaler Arteriosklerose eine andere Therapie als die konventionelle Bypassoperation benötigen. Denn diese Patienten weisen einen geringen Fluss auf und dadurch eine hohe Verschlussrate nach Venengraftimplantation. Die Kombination von Mikro- und Markoangiopathie findet man häufig bei Diabetikern, so stellen sie eine große Gruppe, des Patientenkollektivs dar, die von der venösen Revaskularisation profitieren können. Außerdem schließt dieses Patientenkollektiv Patienten mit zu kleinen Koronararterien für die Anlage einer Anastomose und bereits operierte Patienten mit verschlossenem Bypass und persistierender Symptomatik ein (Hochberg et al., 1979).

Für Patienten, bei denen die Koronararterie bereits mit einer Vielzahl von Stents versorgt wurde, oder weit distal gestentet wurde, dass eine Anlage eines konventionellen Bypasses unmöglich ist, ist ebenfalls ein Benefit zu erwarten.

Ingesamt ist zu vermuten, dass Patienten mit einer hochgradigen Mikroangiopathie zusammen mit einer hochgradigen proximalen Stenose des RIVA, die nicht für eine konventionelle koronararterielle Bypassoperation geeignet sind, von dieser Operationsmethodik profitieren können.

Aus diesem Patientenkollektiv wurden anderen Orts bereits vereinzelt Patienten mit Erfolg mit einer venösen Revaskularisation versorgt, allerdings mit unterschiedlichen Methoden. Im nächsten Schritt sollten bei ausgewählten Patienten, die den Standardtherapien nicht zugeführt werden können, die Methodik der venösen Revaskularisation angewandt werden.

6. Zusammenfassung der Arbeit

Dissertation zur Erlangung des akademischen Grades Dr. med.

Venöse Revaskularisation bei Vorliegen einer Mikro- und Makroangiopathie

eingereicht von

Julia Virginie Schiller

angefertigt an der Universität Leipzig

an der Klinik für Herzchirurgie

betreut von

Prof. Dr. med. S. Dhein

Januar 2010

Das Vorliegen der koronaren Herzkrankheit ist sehr verbreitet in den westlichen Industriestaaten. Dem liegt als Ursache hauptsächlich die Arteriosklerose zugrunde. Beim alleinigen Vorliegen einer Makroangiopathie sind Standardtherapien wie Stent-/Ballonimplantation oder Bypassoperation etabliert und effektiv. Jedoch gibt es eine große Anzahl von Patienten, die von diesen Methoden nicht profitieren können. Das betrifft ca. 12% der Patienten, die für die Indikationen für die oben genannten Methoden vorweisen, aber aufgrund von anatomischen Besonderheiten, Bypassverschlüssen oder das Vorliegen zusätzlicher Erkrankungen, die die Effektivität der Methodik stark herabsetzt. In der vorliegenden Arbeit sollte eine Behandlungsmethodik entwickelt werden für Patienten mit einer Makroangiopathie und gleichzeitigem Vorliegen einer Mikroangiopathie wie es häufig bei Diabetikern auftritt.

In der vorliegenden Arbeit wurde die Effektivität einer venösen Revaskularisation bei Vorliegen einer Mikro- und Makroangiopathie im chronischen Modell von 3 Monaten untersucht.

Dabei wurden 24 Minipigs in 2 Gruppen geteilt: Therapie- und Kontrollgruppe. Im ersten Versuchsteil wurden allen Tieren Mikrosphären (100µm) in den linken Hauptstamm injiziert um eine Mikroangiopathie zu induzieren, welche angiographisch durch eine Fluss-Verlangsamung gezeigt werden konnte. Nach 7 Wochen wurde bei allen Tieren der RIVA

durch Unterstechung stenosierte auf durchschnittlich $84,6 \pm 4,3\%$. Anschließend wurde bei den Tieren der Therapiegruppe die linke Arteria mammaria auf die Begleitvene des RIVA anastomosiert. Die Tiere der Kontrollgruppe blieben ohne Bypass. Der Bypass und die Stenosen wurden angiographisch dargestellt und der Stenosegrad bestimmt. Durch Ultraschallflussmessung wurde die Flussgeschwindigkeit des Bypasses bestimmt. Nach 17 Wochen wurden der Bypass der Therapiegruppe und die Stenosen beider Gruppen angiographisch beurteilt.

Zu Beginn jeden Versuchsteils wurde vor dem Eingriff die Ejektionsfraktion mittels M-Mode-Echokardiographie bestimmt. Dabei konnte ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen im letzten Versuchsteil verzeichnet werden. Die Ejektionsfraktion in der Therapiegruppe stieg nach Therapie an, im Gegensatz dazu sank der Wert in der Kontrollgruppe weiter. Dies zeigt die Effektivität der venösen Revaskularisation bei Vorliegen einer Mikro- und Makroangiopathie. Dieses Ergebnis konnte durch angiographische Darstellungen in Herzkatherteruntersuchungen gestützt werden. Zusätzlich wurde während der Versuche kontinuierlich ein hämodynamisches Monitoring durchgeführt.

Bei der histologischen Auswertung wurden arterielle und venöse Gefäße nach Wanddicke und Lumenfläche untersucht. Dabei wurde ein zunächst nicht klassifizierbarer Gefäßtyp entdeckt, dessen Merkmale eine dicke Gefäßwand und eine große Lumenfläche waren, welche zusammen weder in das Schema der Venen noch der Arterien passen. Die Gefäße des nicht klassifizierten Gefäßtyps wurden ausschließlich im Bereich der Anastomose gefunden. Vermutlich handelte es sich dabei um die arterialisierten Venen, die durch den „ungewohnten“ hohen arteriellen Druck eine Wandveränderung vorgenommen haben. Die Wandveränderung ist in diesem Fall eine Mediaverdickung. Dies bedeutet, dass sich die Vene durch Stärkung der muskulären Schicht dem höheren Blutdruck anpasst. Die Mediaverdickung unterscheidet sich wesentlich zur Intimahyperplasie bei der Druckanpassung von Venengrafts, die wahrscheinlich durch das Operationstrauma hervorgerufen wird. Denn dabei wird das Lumen zunehmend eingeengt bei der Mediaverdickung jedoch nicht.

Demzufolge ist die venöse Revaskularisierung der Begleitvene des RIVA über die Arteria mammaria eine effektive Methode bei Vorliegen einer Mikro- und Makroangiopathie.

7. Literaturverzeichnis

- Abad C, Santana C, Diaz J, Feijoo J. Arteriosclerotic histological evaluation of the internal mammary artery in patients undergoing coronary artery bypass grafting. *Eur J Cardio-thorac Surg*;9:198-201. 1995
- Allaire E, Clowes AW. Endothelial cell injury in cardiovascular surgery: the intimal hyperplastic response. *Ann Thorac Surg*;Feb;63(2):582-91. 1997
- Angelini GD, Christie MI, Bryan AJ, Lewis MJ. Surgical preparation impairs release of endothelium-derived relaxing factor from human saphenous vein. *Ann Thorac Surg*;Sep;48(3):417-20. 1989
- Antoniucci D, Valenti R, Santoro GM, Bolognese L, Trapani M, Cerisano G, Boddi V, Fazzini PF. Restenosis after coronary stenting in current clinical practice. *Am Heart J*;Mar;135(3):510-8. 1998
- Arealis EG, Volder G, Kolff WJ. Arterialization of the coronary vein coming from an ischemic area. *Chest*;Mar;63(3):462-3. 1973
- Bainbridge D, Cheng D, Martin J, Novick R, , Evidence-based Peri-operative Clinical Outcomes Research (EPiCOR) Group. Does off-pump or minimally invasive coronary artery bypass reduce mortality, morbidity, and resource utilization when compared with percutaneous coronary intervention? A meta-analysis of randomized trials. *J Thorac Cardiovasc Surg*;Mar;133(3):623-31. 2007
- Bates RJ, Toscano M, Balderman SC, Anagnostopoulos CE. The cardiac veins and retrograde coronary venous perfusion. *Ann Thorac Surg*;Jan;23:83-90. 1977
- Benedict JS, Buhl TL, Henney RP. Cardiac vein myocardial revascularization. An experimental study and report of 3 clinical cases. *Ann Thorac Surg*;Nov;20(5):550-7. 1975
- Bhayana JN, Olsen DB, Byrne JP, Kolff WJ. Reversal of myocardial ischemia by arterialization of the coronary vein. *J Thorac Cardiovasc Surg*;Jan;67(1):125-32. 1974
- Boss A, Eckstein F, Frenz M, Schaffner T, Meier B, Carrel T. Transmyokardiale Laserrevascularisation: etabliertes Verfahren, Akupunktur am Herzen oder Placebo-Effekt? *Schweiz Med Forum*;(19):504-515. 2001
- Bourassa MG. Long-term vein graft patency. *Curr Opin Cardiol*;9(6):685-91. 1994
- Bryan AJ, Angelini GD. The biology of saphenous vein graft occlusion: etiology and strategies for prevention. *Curr Opin Cardiol*;Nov;9(6):641-9. 1994
- Butany J, David T, Ojha M. Histological and morphometric analyses of early and late aorto-coronary vein grafts and distal anastomoses. *Cardiovascular Surgery*;May 14(5):671-677. 1998

- Califf RM, Mark DB. Percutaneous intervention, surgery, and medical therapy: a perspective from the Duke Databank for Cardiovascular Diseases. *Semin Thorac Cardiovasc Surg*;Apr;6(2):120-8. 1994
- Cameron AA, Davis KB, Rogers WJ. Recurrence of angina after coronary artery bypass surgery: predictors and prognosis (CASS Registry). *Coronary Artery Surgery Study. J Am Coll Cardiol*;Oct;26(4):895-9. 1995
- Cameron AA, Green GE, Brogno DA, Thornton J. Internal thoracic artery grafts: 20-year clinical follow-up. *J Am Coll Cardiol*;Jan;25(1):188-92. 1995
- Campbell PA, McGeachie JK, Prendergast FJ. Vein grafts for arterial repair: their success and reasons for failure. *Ann R Coll Surg Engl*;July;63(4):257-260. 1981
- Carabello BA, Lemole GM, Lee KW, Spann JF. Retrograde coronary capillary perfusion for prevention and reversal of cardiogenic shock in experimental myocardial infarction. *Ann Thorac Surg*;May;21(5):405-11. 1976
- Chiu CJ, Mulder DS. Selective arterialization of coronary veins for diffuse coronary occlusion. An experimental evaluation. *J Thorac Cardiovasc Surg*;Jul;70(1):177-82. 1975
- Cox JL, Chiasson DA, Gotlieb AI. Stranger in a strange land: the pathogenesis of saphenous vein graft stenosis with emphasis on structural and functional differences between veins and arteries. *Prog Cardiovasc Dis*;34(1):45-68. 1991
- The Diabetes Control and Complications Trial Research Group. The Effect of Intensive Treatment of Diabetes on the Development and Progression of Long-Term Complications in Insulin-Dependent Diabetes Mellitus. *N Engl J Med*;Sept 30;329(14):977-986. 1993
- Eckenfels A, Schuler S. [The normal electrocardiogram of miniature swine]. *Arzneimittelforschung*;38(2):253-9. 1988
- Factor SM, Okun EM, Minase T. Capillary microaneurysms in the human diabetic heart. *N Engl J Med*;Feb 14;302(7):384-8. 1980
- Fein FS, Scheuer J. Heart disease in diabetes. Rifkin H, Porte D Jr, eds. *Diabetes Mellitus: Theory and Practice*. 4th ed. New York: Elsevier:812-23. 1990
- Feingold KR, Lee TH, Chung MY, Siperstein MD. Muscle capillary basement membrane width in patients with vacor-induced diabetes mellitus. *J Clin Invest*;July; 78(1):102-107. 1986
- Fitzgibbon GM, Kafka HP, Leach AJ, Keon WJ, Hooper GD, Burton JR. Coronary bypass graft fate and patient outcome: angiographic follow-up of 5,065 grafts related to survival and reoperation in 1,388 patients during 25 years. *J Am Coll Cardiol*;28(3):616-26. 1996
- Ford ES, Ajani UA, Croft JB, Critchley JA, Labarthe DR, Kottke TE, Giles WH, Capewell S. Explaining the decrease in U.S. deaths from coronary disease, 1980-2000. *N Engl J Med*;Jun 7;356(23):2388-98. 2007

- Friedrich O. 2007. Physiologie. Berlin Heidelberg: Springer Verlag, S. 64-65,376.
- Gardner RS, Magovern GJ, Park SB, Dixon CM. Arterialization of coronary veins in the treatment of myocardial ischemia. *J Thorac Cardiovasc Surg*;Aug;68(2):273-82. 1974
- Gaudino M, Serricchio M, Glieca F, Bruno P, Tondi P, Giordano A, Trani C, Calcagni ML, Pola P, Possati G. Steal phenomenon from mammary side branches: when does it occur? *Ann Thorac Surg*;Dec;66(6):2056-62. 1998
- Geiss LS, Herman WH, Smith PJ, National Diabetes Group. Diabetes in America. National Institutes of Health, National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases.;233-257. 1995
- Gohlke H, Gohlke-Barwolf C, Sturzenhofecker P, Gornandt L, Ritter B, Reichelt M, Buchwalsky R, Schmuziger M, Roskamm H. Improved graft patency with anticoagulant therapy after aortocoronary bypass surgery: a prospective, randomized study. *Circulation*;64(2 Pt 2):II22-7. 1981
- Gould KL, Lipscomb K, Hamilton GW. Physiologic basis for assessing critical coronary stenosis. Instantaneous flow response and regional distribution during coronary hyperemia as measures of coronary flow reserve. *Am J Cardiol.*;Jan;33(1):87-94. 1974
- Goy JJ, Eeckhout E, Burnand B, Vogt P, Stauffer JC, Hurni M, Stumpe F, Ruchat P, Sadeghi H, Kappenberger L. Coronary angioplasty versus left internal mammary artery grafting for isolated proximal left anterior descending artery stenosis. *Lancet*;Jun 11;343(8911):1449-53. 1994
- Green GE. Intracoronary pressure and flow in impending myocardial infarction. *J Thorac Cardiovasc Surg*;64(4):625-8. 1972
- Grundey SM, Benjamin IJ, Burke GL, Chait A, Eckel RH, Howard BV, Mitch W, Smith SCJ, Sowers JR. Diabetes and cardiovascular disease: a statement for healthcare professionals from the American Heart Association. *Circulation*;Sep 7;100(10):1134-46. 1999
- Hammon JW, Stump DA, Butterworth JF, Moody DM, Rorie K, Deal DD, Kincaid EH, Oaks TE, Kon ND. Single crossclamp improves 6-month cognitive outcome in high-risk coronary bypass patients: the effect of reduced aortic manipulation. *J Thorac Cardiovasc Surg*;Jan;131(1):114-21. 2006
- Hammond G, Austen WG. Drainage patterns of coronary arterial flow as determined from the isolated heart. *Am J Physiol*;Jun;212(6):1435-40. 1967
- Hartz RS, Heuser RR. Embolization of IMA side branch for post-CABG ischemia. *Ann Thorac Surg*;Jun;63(6):1765-6. 1997
- Hassantash S-A, Bikdeli B, Kalantarian S, Sadeghian M, Afshar H. Pathophysiology of Aortocoronary Saphenous Vein Bypass Graft Disease. *Asian Cardiovasc Thorac Ann*;(16):331-336. 2008

- Heil M, Schaper W. Pathophysiology of collateral development. *Coron Artery Dis*;15(7):373-8. 2004
- Heusch G. Dynamik der Atherosklerose. *Essener Unikate*;20:30-41. 2003
- Hlatky MA, Boothroyd DB, Bravata DM, Boersma E, Booth J, Brooks MM, Carrié D, Clayton TC, Danchin N, Flather M and others. Coronary artery bypass surgery compared with percutaneous coronary interventions for multivessel disease: a collaborative analysis of individual patient data from ten randomised trials. *Lancet*;Apr 4;373(9670):1190-7. 2009
- Hochberg MS, Roberts WC, Morrow AG, Austen WG. Selective arterialization of the coronary venous system. Encouraging long-term flow evaluation utilizing radioactive microspheres. *J Thorac Cardiovasc Surg*;77(1):1-12. 1979
- Hombach V. 2001. Interventionelle Kardiologie, Angiologie und Kardiovaskularchirurgie, 337: Schattauer, S. 337,806.
- Hopenfeld B, Stinstra JG, Macleod RS. Mechanism for ST depression associated with contiguous subendocardial ischemia. *J Cardiovasc Electrophysiol*;Oct;15(10):1200-6. 2004
- Junqueira LC, Carneiro J. 2004. Histologie: Springer Verlag, 6. Auflage, S.164-186.
- Kaluski E, Gerula C, Randhawa P, Klapholz M. Funneling: enhancing results of small-vessel stenting. *Cardiovasc Revasc Med*;10(4):255-8. 2009
- Kay EB, Suzuki A. Coronary venous retroperfusion for myocardial revascularization. *Ann Thorac Surg*;Mar;19(3):327-30. 1975
- Kern MJ. Mammary side branch steal: is this a real or even clinically important phenomenon? *Ann Thorac Surg*;66:1873-1875. 1998
- Langer S, Heiss C, Paulus N, Bektas N, Mommertz G, Rowinska Z, Westenfeld R, Jacobs MJ, Fries M, Koeppel TA and others. Functional and structural response of arterialized femoral veins in a rodent AV fistula model. *Nephrol Dial Transplant*;Jul;24(7):2201-6. 2009
- Lee T, Roy-Chaudhury P. Advances and new frontiers in the pathophysiology of venous neointimal hyperplasia and dialysis access stenosis. *Adv Chronic Kidney Dis*;Sep;16(5):329-38. 2009
- Lower RR, Dong E, Jr., Shumway NE. Long-Term Survival of Cardiac Homografts. *Surgery*;58:110-9. 1965
- Luise R, Teodori G, Di Giammarco G, D'Annunzio E, Paloscia L, Barsotti A, Gallina S, Conti M, Vitolla G, Calafiore AM. Persistence of mammary artery branches and blood supply to the left anterior descending artery. *Ann Thorac Surg*;Jun;63(6):1759-64. 1997
- Magee MJ, Alexander JH, Hafley G, Ferguson TBJ, Gibson CM, Harrington RA, Peterson ED, Califf RM, Kouchoukos NT, Herbert MA and others. Coronary artery bypass

- graft failure after on-pump and off-pump coronary artery bypass: findings from PREVENT IV. *Ann Thorac Surg*;Feb;85(2):494-9; discussion 499-500. 2008
- Marco JD, Hahn JW, Barner HB, Jellinek M, Blair OM, Standeven JW, Kaiser GC. Coronary venous arterialization: acute hemodynamic, metabolic, and chronic anatomical observations. *Ann Thorac Surg*;May;23(5):449-54. 1977
- Meerbaum S, Lang TW, Osher JV, Hashimoto K, Lewis GW, Feldstein C, Corday E. Diastolic retroperfusion of acutely ischemic myocardium. *Am J Cardiol*;Mar 31;37(4):588-98. 1976
- Mills NL, Bringaze WL, 3rd. Preparation of the internal mammary artery graft. Which is the best method? *J Thorac Cardiovasc Surg*;98(1):73-7; discussion 78-9. 1989
- Mirhoseini M, Shelgikar S, Cayton M. Clinical and histological evaluation of laser myocardial revascularization. *J Clin Laser Med Surg*;Jun;8(3):73-7. 1990
- Mogensen CE, Standl E. 1989. Prevention and Treatment of Diabetic Late Complications.: De Gruyter, Berlin, 151-168.
- Moll JW, Dziatkowiak AJ, Edelman M, Iljin W, Ratajczyk-Pakalska E, Stengert K. Arterialization of the coronary veins in diffuse coronary arteriosclerosis. *J Cardiovasc Surg (Torino)*;Sep-Oct;16(5):520-5. 1975
- Moosdorf R, Schoebel FC, Hort W. Transmyocardial laser revascularization--morphologic, pathophysiologic and historical principles of indirect revascularization of the heart muscle. *Z Kardiol*;Mar;86(3):149-64. 1997
- Most AS, Williams DO, Gewirtz H. Elevated coronary vascular resistance in the presence of reduced resting blood flow distal to a severe coronary stenosis. *Cardiovasc Res*;Oct;19(10):599-605. 1985
- Motwani JG, Topol EJ. Aortocoronary Saphenous Vein Graft Disease : Pathogenesis, Predisposition, and Prevention. *Circulation*;Mar 10;97(9):916-31. 1998
- Mukherjee D, Bhatt DL, Roe MT, Patel V, Ellis SG. Direct myocardial revascularization and angiogenesis--how many patients might be eligible? *Am J Cardiol*;Sep 1;84(5):598-600. 1999
- Nahser PJ, Brown RE, Oskarsson H, Winniford MD, Rossen JD. Maximal coronary flow reserve and metabolic coronary vasodilation in patients with diabetes mellitus. *Circulation*;Feb 1;91(3):635-40. 1995
- National Center for Health Statistics. Health, United States, 1998. Washington DC: Government Printing Office. 1998
- Nguyen HC, Grossi EA, LeBoutillier M, 3rd, Steinberg BM, Rifkin DB, Baumann FG, Colvin SB, Galloway AC. Mammary artery versus saphenous vein grafts: assessment of basic fibroblast growth factor receptors. *Ann Thorac Surg*;58(2):308-10; discussion 310-1. 1994

- Oesterle SN, Reifart N, Hauptmann E, Hayase M, Yeung AC. Percutaneous in situ coronary venous arterialization: report of the first human catheter-based coronary artery bypass. *Circulation*;May 29;103(21):2539-43. 2001
- Okies JE, Page US, Bigelow JC, Krause AH, Salomon NW. The left internal mammary artery: the graft of choice. *Circulation*;Sep;70(3 Pt 2):213-21. 1984
- Panzram. Mortality and survival in type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus. *Diabetologia*;Mar;30(3):123-31. 1987
- Parang P, Arora R. Coronary vein graft disease: pathogenesis and prevention. *Can J Cardiol*;Feb;25(2):e57-62. 2009
- Park SB, Magovern GJ, Liebler G, Dixon CM, Begg FR, Fisher DL, Dosios TJ, Gardner RS. Direct selective myocardial revascularization by internal mammary artery-coronary vein anastomosis. *J Thorac Cardiovasc Surg*;Jan;69(1):63-72. 1975
- Popov AF, Dorge H, Hinz J, Schmitto JD, Stojanovic T, Seipelt R, Didilis V, Schoendube FA. Accelerated intimal hyperplasia in aortocoronary internal mammary vein grafts in minipigs. *J Cardiothorac Surg*;3:20. 2008
- Pratt FH. The nutrition of the heart through the vessels of thebesius and the coronary veins. *Am J Physiol*;1(1):86-103. 1898
- Quatember B. Simulationsmodell für die koronare Hämodynamik und Möglichkeiten seiner diagnostischen Anwendung. *Biomedizinische Technik/Biomedical Engineering*;41(1):90-91. 2009
- Rastan AJ, Walther T, Falk V, Gummert JF, Eckenstein JJ, Mohr FW. Off-pump coronary artery bypass grafting. State of the art 2006 and results in comparison with conventional coronary artery bypass strategies. *Herz*;Aug;31(5):384-95. 2006
- Reifart N, Schwarz F, Hofmann M, Göhring S, Störger H, Haase J. Balloon angioplasty of stent restenosis: early and late results of first and second PTCA in focal and diffuse stenosis. *Z Kardiol*;87(3):65-71, 79-80. 1998
- Resetar ME, Ullmann C, Broeske P, Ludwig-Schindler K, Doll NK, Salameh A, Dhein S, Mohr FW. Selective arterialization of a cardiac vein in a model of cardiac microangiopathy and macroangiopathy in sheep. *J Thorac Cardiovasc Surg*;May;133(5):1252-6. 2007
- Reston JT, Tregear SJ, Turkelson CM. Meta-analysis of short-term and mid-term outcomes following off-pump coronary artery bypass grafting. *Ann Thorac Surg*;Nov;76(5):1510-5. 2003
- Rhodes GR, Syracuse DC, McIntosh CL. Evaluation of regional myocardial nutrient perfusion following selective retrograde arterialization of the coronary vein. *Ann Thorac Surg*;Apr;25(4):329-35. 1978
- Roskamm, Neumann, Kalusche, Bestehorn. 2004. *Herzkrankheiten*. Berlin Heidelberg: Springer Verlagm, S.982-984, 1068-1069

- Sabik JF, Gillinov AM, Blackstone EH, Vacha C, Houghtaling PL, Navia J, Smedira NG, McCarthy PM, Cosgrove DM, Lytle BW. Does off-pump coronary surgery reduce morbidity and mortality? *J Thorac Cardiovasc Surg*;124(4):698-707. 2002
- Sandner TA. Akutmodell eines Stent-basierten direkten Bypasses vom linken Ventrikel zur Koronararterie (LAD/RIVA) im tierexperimentellen Modell am Schwein. München: LMU; 2008.
- Schaper W. The collateral circulation of the heart. *Prog Cardiovasc Dis*. 1988
- Schaper W, Buschmann I. Collateral circulation and diabetes. *Circulation*;May 4;99(17):2224-6. 1999
- Schuleri KH, Boyle AJ, Centola M, Amado LC, Evers R, Zimmet JM, Evers KS, Ostbye KM, Scorpio DG, Hare JM and others. The adult Gottingen minipig as a model for chronic heart failure after myocardial infarction: focus on cardiovascular imaging and regenerative therapies. *Comp Med*;58(6):568-79. 2008
- Seiler C, Pohl T, Wustmann K, Hutter D, Nicolet PA, Windecker S, Eberli FR, Meier B. Promotion of collateral growth by granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in patients with coronary artery disease: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Circulation*;104(17):2012-7. 2001
- Serruys PW, de Jaegere P, Kiemeneij F, Macaya C, Rutsch W, Heyndrickx G, Emanuelsson H, Marco J, Legrand V, Materne P and others. A comparison of balloon-expandable-stent implantation with balloon angioplasty in patients with coronary artery disease. Benestent Study Group. *N Engl J Med*;331(8):489-95. 1994
- Siegenthaler W, Blum HE. 2006. *Klinische Pathophysiologie*: Georg Thieme Verlag, S.596-597,620,636,646,698,704-705
- Simoons ML. Thrombolytic therapy in acute myocardial infarction. *Annu Rev Med*;40:181-200. 1989
- Singhal S, Khoury S. Images in clinical medicine. Imaging of thebesian venous system. *N Engl Med*;Aug;14;359(7), e8. 2008
- Sisto T. Atherosclerosis in Internal Mammary and Related Arteries. *Scandinavian Cardiovascular Journal*;24(1):7-11. 1990
- Sjöquist P. Distribution of the collateral blood flow at the lateral border of the ischemic myocardium after acute coronary occlusion in the pig and the dog. *Basic Res Cardiol*;Mar-Apr;79(2):164-75. 1984
- Sottiurai VS, Yao JS, Flinn WR, Batson RC. Intimal hyperplasia and neointima: An ultrastructural analysis of thrombosed grafts in humans. *Surgery*;Jun;93(6):809-17. 1983
- Strödter PDD. 2004. *Diabetes mellitus - eine kardiovaskuläre Erkrankung*. Bremen: Uni-Med Verlag AG. S.21

- Stubhan M. Evaluation of cardiovascular and ECG parameters in the normal, freely moving Göttingen Minipig. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*;57(3):202-211. 2008
- Sukhija R, Aronow WS, Sureddi R, Aleti S, Molavi B, Sachdeva R, Mehta JL. Predictors of in-stent restenosis and patient outcome after percutaneous coronary intervention in patients with diabetes mellitus. *Am J Cardiol*;100(5):777-80. 2007
- Thelen M. 2007. Bildgebende Kardiagnostik. Stuttgart: Georg Thieme Verlag, S.41
- Togni M, Eber S, Widmer J, Billinger M, Wenaweser P, Cook S, Vogel R, Seiler C, Eberli FR, Maier W and others. Impact of vessel size on outcome after implantation of sirolimus-eluting and paclitaxel-eluting stents: a subgroup analysis of the SIRTAX trial. *J Am Coll Cardiol*;50(12):1123-31. 2007
- Treistman B, Sulbaran TA, Cooley DA. Saphenous vein bypass from the aorta to the anterior interventricular vein. *Ann Thorac Surg*;26(4):383-6. 1978
- van Royen N, Schirmer SH, Atasever B, Behrens CY, Ubbink D, Buschmann EE, Voskuil M, Bot P, Hoefer I, Schlingemann RO and others. START Trial: a pilot study on STimulation of ARTeriogenesis using subcutaneous application of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor as a new treatment for peripheral vascular disease. *Circulation*;112(7):1040-6. 2005
- van Son JA, Smedts F, Vincent JG, van Lier HJ, Kubat K. Comparative anatomic studies of various arterial conduits for myocardial revascularization. *J Thorac Cardiovasc Surg*;99(4):703-7. 1990
- Vlodaver Z, Edwards JE. Pathologic changes in aortic-coronary arterial saphenous vein grafts. *Circulation*;Oct;44(4):719-28. 1971
- Vlodaver Z, Edwards JE. Pathologic analysis in fatal cases following saphenous vein coronary arterial bypass. *Chest*;64(5):555-63. 1973
- Westra J, Molema G, Kallenberg CG. Hypoxia-Inducible Factor-1 as Regulator of Angiogenesis in Rheumatoid Arthritis - Therapeutic Implications. *Curr Med Chem*. 2009
- Williamson JR, Kilo C. Capillary basement membranes in diabetes. *DiabetesSuppl*;May;32(2):96-100. 1983
- Zajtchuk R, Heydorn WH, Miller JG, Strevey TE, Treasure RL. Revascularization of the heart through the coronary veins. *Ann Thorac Surg*;21(4):318-21. 1976
- Zeff RH, Kongtahworn C, Iannone LA, Gordon DF, Brown TM, Phillips SJ, Skinner JR, Spector M. Internal mammary artery versus saphenous vein graft to the left anterior descending coronary artery: prospective randomized study with 10-year follow-up. *Ann Thorac Surg*;45(5):533-6. 1988

8. Anhang

Im Folgenden sind von allen Parametern die Mittelwerte und S.E.M. aufgeführt.

Funktionelle Parameter

Ejektionsfraktion in %		Therapiegruppe	Kontrollgruppe
Versuchsteil 1	Basis	76,83 ± 3,45	84,00 ± 4,03
Versuchsteil 2	vor Stenose	47,83 ± 2,44	64,00 ± 3,39
Versuchsteil 3	Final	67,50 ± 4,50	40,33 ± 3,47

Tabelle 4: Mittelwerte ± S.E.M. der Abbildung 14: Ejektionsfraktion von Therapiegruppe und Kontrollgruppe zu bestimmten Zeitpunkten

CK in U/l		Therapiegruppe	Kontrollgruppe
Versuchsteil 2	vor Stenose	1491 ± 136	1688 ± 61
Versuchsteil 2	nach Bypass/ 90 min nach Stenose	813 ± 181	2354 ± 681

Tabelle 5: Mittelwerte ± S.E.M. der Abbildung 15: Konzentration von CK von Therapiegruppe und Kontrollgruppe zu bestimmten Zeitpunkten

CKMB in U/l		Therapiegruppe	Kontrollgruppe
Versuchsteil 2	vor Stenose	439 ± 81	457 ± 5
Versuchsteil 2	nach Bypass/ 90 min nach Stenose	413 ± 53	1075 ± 97

Tabelle 6: Mittelwerte ± S.E.M. der Abbildung 16: Konzentration von CKMB von Therapiegruppe und Kontrollgruppe zu bestimmten Zeitpunkten

ST-Veränderung in mV		Therapiegruppe	Kontrollgruppe
Versuchsteil 1	Basis	0	0
Versuchsteil 1	nach Mikrosphären	6 ± 22	8 ± 25
Versuchsteil 2	vor Stenose	-8 ± 22	0 ± 24
Versuchsteil 2	unmittelbar nach Stenose	-15 ± 39	-17 ± 14
Versuchsteil 2	nach Bypass/ 90 min nach Stenose	10 ± 22	-42 ± 18
Versuchsteil 3	Final	-25 ± 10	8 ± 18

Tabelle 7: Mittelwerte ± S.E.M. der Abbildung 17: ST-Veränderungen im EKG von Therapiegruppe und Kontrollgruppe zu bestimmten Zeitpunkten

Herzfrequenz 1/min		Therapiegruppe	Kontrollgruppe
Versuchsteil 1	Basis	76 ± 7	94 ± 20
Versuchsteil 1	nach Mikrosphären	74 ± 4	65 ± 6
Versuchsteil 2	vor Stenose	85 ± 7	74 ± 2
Versuchsteil 2	unmittelbar nach Stenose	94 ± 5	79 ± 8
Versuchsteil 2	nach Bypass/ 90 min nach Stenose	103 ± 6	107 ± 18
Versuchsteil 3	Final	75 ± 6	87 ± 7

Tabelle 8: Mittelwerte ± S.E.M. der Abbildung 18: Herzfrequenz von Therapiegruppe und Kontrollgruppe zu bestimmten Zeitpunkten

Mittlerer arterieller Blutdruck in mmHg		Therapiegruppe	Kontrollgruppe
Versuchsteil 1	Basis	69,0 ± 6,1	78,0 ± 6,1
Versuchsteil 1	nach Mikrosphären	59,8 ± 3,5	63,3 ± 3,5
Versuchsteil 2	vor Stenose	83,7 ± 2,5	83,0 ± 4,3
Versuchsteil 2	unmittelbar nach Stenose	74,6 ± 3,6	70,3 ± 4,3
Versuchsteil 2	nach Bypass/ 90 min nach Stenose	74,6 ± 4,1	63,7 ± 6,5
Versuchsteil 3	Final	62,7 ± 7,6	55 ± 6,8

Tabelle 9: Mittelwerte ± S.E.M. der Abbildung 19: mittlerer arterieller Blutdruck von Therapiegruppe und Kontrollgruppe zu bestimmten Zeitpunkten

Systolischer Blutdruck in mmHg		Therapiegruppe	Kontrollgruppe
Versuchsteil 1	Basis	92,7 ± 4,5	94,7 ± 7,2
Versuchsteil 1	nach Mikrosphären	79,5 ± 1,0	80,7 ± 2,4
Versuchsteil 2	vor Stenose	110,3 ± 5,0	105,0 ± 3,3
Versuchsteil 2	unmittelbar nach Stenose	84,6 ± 2,8	90,7 ± 4,3
Versuchsteil 2	nach Bypass/ 90 min nach Stenose	91,5 ± 3,7	91,0 ± 5,2
Versuchsteil 3	Final	90,7 ± 3,5	74,3 ± 3,5

Tabelle 8: Mittelwerte ± S.E.M. der Abbildung 20: systolischer Blutdruck von Therapiegruppe und Kontrollgruppe zu bestimmten Zeitpunkten

Diastolischer Blutdruck in mmHg		Therapiegruppe	Kontrollgruppe
Versuchsteil 1	Basis	55,7 ± 7,3	61,3 ± 6,6
Versuchsteil 1	nach Mikrosphären	42,8 ± 4,8	49,0 ± 3,3
Versuchsteil 2	vor Stenose	64,0 ± 2,1	66,3 ± 4,7
Versuchsteil 2	unmittelbar nach Stenose	61,4 ± 5,6	59,3 ± 3,6
Versuchsteil 2	nach Bypass/ 90 min nach Stenose	62,8 ± 5,5	53,7 ± 6,6
Versuchsteil 3	Final	57,0 ± 0,5	53,7 ± 3,8

Tabelle 9: Mittelwerte ± S.E.M. der Abbildung 21: diastolischer Blutdruck von Therapiegruppe und Kontrollgruppe zu bestimmten Zeitpunkten

Histologische Auswertung

Durchschnittliche Fläche des Gefäßlumens in μm^2	Arterielle Gefäße	Venöse Gefäße
Rechter Ventrikel	$83473,3 \pm 3627,1$	$4652,8 \pm 1156,9$
Linker Ventrikel	$4954,2 \pm 3102,6$	$62990,6 \pm 48794,9$
Septum	$12421,9 \pm 4822,5$	$31740,3 \pm 21099,2$
Arteriocoronarer Bypass	$130040,1 \pm 72196,7$	$22522,3 \pm 8252,8$

Tabelle 10: Mittelwerte \pm S.E.M. der Abbildung 22: durchschnittliche Fläche des Gefäßlumens von arteriellen und venösen Gefäßen

Durchschnittliche Wanddicke in μm	Arterielle Gefäße	Venöse Gefäße
Rechter Ventrikel	$27,4 \pm 4,4$	$14,3 \pm 2,9$
Linker Ventrikel	$20,7 \pm 4,5$	$26,9 \pm 8,3$
Septum	$28,8 \pm 4,3$	$17,1 \pm 4,3$
Arteriocoronarer Bypass	$47,8 \pm 14,4$	$31,1 \pm 5,5$

Tabelle 11: Mittelwerte \pm S.E.M. der Abbildung 23: durchschnittliche Wanddicke von arteriellen und venösen Gefäßen

Relative Wanddicke in μm	Arterielle Gefäße	Venöse Gefäße
Rechter Ventrikel	$0,0100 \pm 0,0014$	$0,0049 \pm 0,0007$
Linker Ventrikel	$0,0116 \pm 0,0016$	$0,0059 \pm 0,0015$
Septum	$0,0099 \pm 0,0017$	$0,0026 \pm 0,0005$
Arteriocoronarer Bypass	$0,0100 \pm 0,0030$	$0,0049 \pm 0,0010$

Tabelle 12: Mittelwerte \pm S.E.M. der Abbildung 24: relative Wanddicke von arteriellen und venösen Gefäßen

Bereich	Arterien	Venen	Nicht klassifizierter Gefäßtyp
arteriocoronarer Bypass			
Durchschnittliche Fläche des Gefäßlumens in μm^2	$2612,7 \pm 481,3$	$4154,9 \pm 776,2$	$134284,0 \pm 69144,7$
Durchschnittliche Wanddicke in μm	$20,0 \pm 2,2$	$10,0 \pm 0,9$	$70,0 \pm 10,0$
Relative Wanddicke in μm	$0,0121 \pm 0,0029$	$0,0036 \pm 0,0007$	$0,0048 \pm 0,0019$

Tabelle 13: Mittelwerte \pm S.E.M. der Abbildungen 27, 28, 29: durchschnittliche Fläche des Gefäßlumens, durchschnittliche Wanddicke, relative Wanddicke der Arterien, Venen und des nicht klassifizierten Gefäßtyps im Bereich des arteriocoronaren Bypasses

Im Folgenden sind alle Messwerte von allen Tieren zu Beginn des Versuchs angegeben. Perspektivisch soll dies zur Erstellung von Normwerten für Minipigs beitragen.

Die Tiere mit * gekennzeichnet wurden in die Auswertung einbezogen.

Therapiegruppe					*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	MW ± S.E.M.
Alter (Monate)	18,5	18,5	18,5	18,5	19,5	19,5	19,5	19,5	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5	12,9 ± 2,1
Gewicht (kg)	39	42	34	41	27	44	30	18	18	18	16	17	16	16	16	16	28,5 ± 3,1
Geschlecht	w	w	m	m	w	m	w	w	w	w	m	m	m	m	m	m	
Herzfrequenz (1/min)	89	48	47	53	86	83	81	84	78	78	78	66	68	66	68	68	71,75 ± 4,18
MAP (mmHg)	81	85	72		90	80	67	60	54	61	61	37	73	37	73	73	69,1 ± 4,4
pH-Wert	7,534	7,430	7,506	7,543	7,532	7,462	7,458	7,451	7,538	7,498	7,498	7,346	7,477	7,346	7,477	7,477	7,477 ± 0,016
pCO ₂ (mmHg)	33,9	37,3	37,1	37	34,9	35,4	38,8	35,5	30,0	36,6	36,6	44,6	38,7	44,6	38,7	38,7	36 ± 1,1
pO ₂ (mmHg)	346	286	443	389	366	459	386	418	296	420	420	156	387	156	387	387	360 ± 23
ctHb (mmol/L)	6,0	5,2	5,7	5,5	5,6	6,6	5,8	5,9	6,0	5,7	5,7	6,4	5,2	6,4	5,2	5,2	5,7 ± 0,2
Hct _c (%)	30,1	25,8	28,3	27,5	28	32,8	28,9	29,5	29,8	28,5	28,5	32	26,1	32	26,1	26,1	28,3 ± 0,9
sO ₂ (%)	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
FO ₂ Hb (%)	99,5	99,4	99,7	99,2	99,4	99,8	99,7	99,8	99,7	99,6	99,6	98,5	99,4	98,5	99,4	99,4	99,5 ± 0,1
FCOHb (%)	0,4	0,2	0	0	0,3	0	0,2	0,3	0,5	0	0	0,7	0,5	0,7	0,5	0,5	0,3 ± 0,1
FHHb (%)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
FMetHb (%)	0,5	0,6	0,3	0,9	0,5	0,3	0,6	0,3	0,4	0,4	0,4	0,8	0,6	0,8	0,6	0,6	0,49 ± 0,07
cK ⁺ (mmol/L)	3,83	3,27	3,53	3,65	4,87	4,04	3,45	3,26	3,99	3,84	3,84	3,2	4,21	3,2	4,21	4,21	3,72 ± 0,14
cNa ⁺ (mmol/L)	141,8	134,3	144,1	141,2	142,2	141,2	137,1	137,7	137,5	138,2	138,2	135,9	138,3	135,9	138,3	138,3	139 ± 0,7
cCa ²⁺ (mmol/L)	1,24	1,29	1,35	1,29	1,31	1,4	1,31	1,44	1,41	1,4	1,4	1,47	1,4	1,47	1,4	1,4	1,34 ± 0,02
cCl ⁻ (mmol/L)	103	99	103	100	102	102	98	102	102	101	101	98	102	98	102	102	101,8 ± 1,1
cGlucose (mmol/L)	4,7	7,3	7,4	3,9	6,8	10,2	9,0	9,5	6,8	2,9	2,9	13,8	6,6	13,8	6,6	6,6	7,1 ± 0,9
cLactat (mmol/L)	1,6	2,4	4,0	1,3	2,8	4,3	4,7	4,4	2,4	2,6	2,6	7,3	2,0	7,3	2,0	2,0	3,1 ± 0,5
cBase (mmol/L)	5,5	0,5	5,7	8,6	6,1	1,5	3,4	0,8	2,8	4,9	4,9	-1,1	4,8	-1,1	4,8	4,8	2,9 ± 0,9
cHCO ₃ ⁻ (mmol/L)	29,8	25,0	29,8	32,6	30,2	26,0	25,1	25,2	27,5	29,0	29,0	23,3	28,8	23,3	28,8	28,8	27 ± 0,9

Tabelle 16: Biometrische Daten aller Tiere der Therapiegruppe

9. Danksagung

Prof. Dr. med. F.-W. Mohr danke ich für die Überlassung des Arbeitsplatzes.

Ich bedanke mich recht herzlich bei Prof. Dr. med. S. Dhein für die Überlassung des Promotionsthemas und der sehr guten Betreuung durch stetige Unterstützung und wissenschaftliche Ratschläge. Aus dieser Zusammenarbeit habe ich viel mitnehmen können.

Des Weiteren bedanke ich mich bei Michaela Resetar für die Durchführung der Versuche und für die nachfolgende Hilfestellung bei der Fertigstellung der Arbeit

Bei Petra Bröske und Susann Ossmann bedanke ich mich für die Assistenz bei den Versuchen und beim Herausfinden von den berühmten Kleinigkeiten und bei Silke Krabbs ganz besonders für die Hilfe im Labor.

Auch möchte ich meinen Arbeitskollegen der IMISE bedanken, die mir während der Promotionszeit stets mit Rat und Tat zur Seite standen.

Einen besonderen Dank gilt meiner Familie und Freunden für die ununterbrochene Unterstützung und Motivation, ohne die ich die Promotion in der Form und Zeit nicht hätte meistern können.

Erklärung über die eigenständige Abfassung der Arbeit

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig und ohne unzulässige Hilfe oder Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe. Ich versichere, dass Dritte von mir weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen, und dass die vorgelegte Arbeit weder im Inland noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde zum Zweck einer Promotion oder eines anderen Prüfungsverfahrens vorgelegt wurde. Alles aus anderen Quellen und von anderen Personen übernommene Material, das in der Arbeit verwendet wurde oder auf das direkt Bezug genommen wird, wurde als solches kenntlich gemacht. Insbesondere wurden alle Personen genannt, die direkt an der Entstehung der vorliegenden Arbeit beteiligt waren.

22.11.2010

Lebenslauf

Persönliche Daten

Name: Julia Virginie Schiller

Geburtsdatum: 17.10.1984

Geburtsort: Magdeburg

Schulischer Werdegang

1991 - 1995	Grundschule "Grundschule Bruno-Beye-Ring", Magdeburg
1995 - 2001	“Albert-Einstein-Gymnasium", Magdeburg
2001 - 2002	Austauschschülerin an der Waurika Public High School, Oklahoma, USA
2002 - 2004	"Albert-Einstein-Gymnasium", Magdeburg
2004	Abitur

Studium

seit 10 2004	Medizinische Fakultät, Universität Leipzig
--------------	--

Praktisches Jahr

02 2010 - 06 2010	Chirurgie, Hospital Civil Viejo, Universidad de Guadalajara, Mexiko
06 2010 - 10 2010	Innere Medizin, Hôpital Saint-André, Université Bordeaux, Frankreich
10 2010 – 01 2011	Anästhesie, Uniklinikum Leipzig

Famulaturen

02 2007- 03 2007	Kinderorthopädie, Orthopädisches Spital Speising, Wien, Österreich
08 2007- 09 2007	Innere Medizin, Krankenhaus Niebüll
09 2008	Allgemeine Chirurgie, Hospital Clínico Universitario Valencia, Spanien
02 2009- 03 2009	Innere Medizin/Gynäkologie, Hospital Breman-Asikuma, Ghana

Weitere praktische Tätigkeiten

04 2007 - 09 2008	Engagement am Teddybär-Krankenhaus, Leipzig
04 2007 - 01 2010	studentische Hilfskraft am Institut für Statistik und Epidemiologie (IMISE), Universität Leipzig